

Untersuchungen zur Charakterisierung und Klas-
sifizierung des "Tauben-Paramyxovirus" sowie
Überprüfung der Schutzwirkung verschiedener
Newcastle-Disease-Impfstoffe bei Tauben (*Co-
lumba livia* Gmel. 1789 var. dom.)

Ulrike Heil

Dies München
1984



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548306_0033

Aus dem Institut für Geflügelkrankheiten
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof.Dr.Josef Kösters

Untersuchungen zur Charakterisierung und Klas-
sifizierung des "Tauben-Paramyxovirus" sowie
Überprüfung der Schutzwirkung verschiedener
Newcastle-Disease-Impfstoffe bei Tauben (*Columba livia* Gmel. 1789 var. dom.)

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Ulrike Heil

aus Saarbrücken

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. J. Kösters

Korreferent: Prof. Dr. E. Munz

Tag der Promotion: 27. Juli 1984

Meiner Mutter gewidmet

I

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	<u>Seite</u>
1. Einleitung	1
2. Literatur	2
2.1 Einteilung der Paramyxoviren (PMV), einschließlich der aviären PMV (aPMV)	2
2.2 Morphologie der PMV	4
2.3 Strukturelle Polypeptide	4
2.3.1 Innere Proteine	4
2.3.1.1 Nukleoprotein (NP)	4
2.3.1.2 Membranprotein (MP)	5
2.3.2 Äußere Proteine	5
2.4 Verhalten von aPMV in Zellkulturen	5
2.5 PMV 1 = Newcastle Disease-Virus (NDV) bei Hühnern	6
2.5.1 Geschichte der Newcastle-Disease (ND)	6
2.5.2 Klinische Erscheinungsformen bei Hühnern	7
2.5.3 Empfänglichkeit der verschiedenen Vo- gelspezies für das NDV	8
2.5.4 Pathotypen der ND	9
2.5.5 Plaquemorphologie	10
2.6 NDV bei Tauben	10
2.6.1 Natürliche Infektionen	10
2.6.2 Künstliche Infektion bei Tauben	11
2.6.3 ND-Übertragung Taube-Huhn	13
2.6.4 ND-Übertragung Huhn-Taube	13
2.6.5 Virusausscheidung nach künstlicher Infektion mit NDV	14
2.6.6 Paramyxovirose der Tauben in Deutsch- land	15
2.6.7 Impfprogramme gegen NDV bei Tauben	17
2.6.8 Serologische Untersuchungen über die HAH-Antikörperbildung gegen verschie- dene aPMV bei Tauben	19

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	<u>Seite</u>	
2.7	Andere aPMV bei Tauben	20
3.	Eigene Untersuchungen	21
3.1	Material	21
3.1.1	Versuchstiere	21
3.1.1.1	Tauben (<i>Columba livia</i> Gmel. 1789 var. dom.)	21
3.1.1.2	Junghähne (<i>Gallus gallus</i> L. 1758 var. dom.)	21
3.1.1.3	Mohrenkopfpapageien (<i>Poicephalus</i> <i>senegalus</i> L. 1766)	21
3.1.1.4	Wellensittiche (<i>Melopsittacus un-</i> <i>dulatus</i> Shaw 1805)	21
3.1.1.5	Haltung während der Infektionsversuche	22
3.1.1.6	Fütterung	22
3.1.2	Virusstämme	23
3.1.3	Impfstoffe zur Schutzimpfung gegen die atypische Geflügelpest	22
3.1.4	Medien für Zellkulturen	24
3.1.4.1	Medien für primäre HEF	24
3.1.5	Agaroverlay	24
3.1.6	Phosphate buffered saline (PBS), pH 7,2	24
3.1.7	Materialien für die elektronenmikros- kopischen Aufnahmen	25
3.1.8	Puffer für die Virusreinigung	25
3.1.9	SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese	25
3.1.9.1	Zusammensetzung der Gele	25
3.1.9.2	Zusammensetzung des Probenpuffers (x 2)	26
3.1.9.3	Zusammensetzung des Elektrophorese- puffers	26
3.1.9.4	Markerlösungen	26
3.1.9.5	Zusammensetzung der Färbe- und Ent- färbelösung	27
3.1.9.6	Reagenzien für die Silberfärbung	27

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	<u>Seite</u>
3.2 Methoden	28
3.2.1 Blutentnahme	28
3.2.2 Serumgewinnung	28
3.2.3 Serumbehandlung	28
3.2.4 Herstellung einer 0,75%igen Hühner- erythrozytensuspension	28
3.2.5 Hämagglutination (HA)	29
3.2.6 Hämagglutinationshemmung (HAH)	29
3.2.7 Zellkulturen	30
3.2.8 Virustitration in HEF	30
3.2.9 Virusneutralisationstest (VN-Test)	30
3.2.10 Plaquereinigung	31
3.2.11 Virusvermehrung in embryonierten Eiern	31
3.2.12 Virusvermehrung in Zellen	32
3.2.13 Mean Death Time (MDT)	32
3.2.14 Intracerebraler Pathogenitätsindex (ICPI)	33
3.2.15 Intravenöser Pathogenitätsindex (IVPI)	33
3.2.16 Untersuchung der physikalisch-chemi- schen Eigenschaften	34
3.2.16.1 Bestimmung der Nukleinsäure	34
3.2.16.2 Verhalten gegenüber Lipidlösungsmitteln	34
3.2.16.3 Säurebehandlung	34
3.2.16.4 Thermostabilität des Hämagglutinins	35
3.2.16.5 Thermostabilität der Infektiosität	35
3.2.17 Elektronenmikroskopische Aufnahmen des PMV 14/83, 4. Eipassage	35
3.2.18 Virusreinigung	35
3.2.19 Proteinextraktion	36
3.2.20 SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese	37
3.2.20.1 Aufbau der Elektrophorese-Apparatur	37
3.2.20.2 Aufbereitung der Probe	38

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	<u>Seite</u>	
3.2.20.3	Färben des Gels mit Coomassieblau	38
3.2.20.4	Silberfärbung des Gels	38
3.3	Versuchsplanung	38
3.3.1	Pathogenitätsversuche	38
3.3.1.1	Achtwöchige Hähne	39
3.3.1.2	Wellensittiche	39
3.3.1.3	Mohrenkopfpapageien	39
3.3.2	Infektionstest an gesunden Tauben	39
3.3.3	Impfprogramme	40
4.	Ergebnisse	41
4.1	Untersuchung der physikalisch-chemischen Eigenschaften der 2. Eipassage des PMV 14/83	41
4.2	Kreuz-HAH mit der 2. und 5. Eipassage des PMV 14/83 und einigen aPMV	42
4.3	Titration monospezifischer PMV 14/83- und NDV 135-Antiseren gegen die 2. und 5. Eipassage des PMV 14/83 und NDV-Montana	44
4.4	VN-Test	45
4.5	Elektronenmikroskopische Aufnahmen	46
4.6	Vergleich der Molekulargewichte der Proteine von NDV-Montana, PMV 14/83, 3. Eipassage und Sendai-Virus nach Auftrennung in der SDS-Polyacrylamid-gelelektrophorese	47
4.7	MDT	50
4.8	ICPI	50
4.9	IVPI	50
4.10	Infektionstest an gesunden Tauben	53
4.11	Pathogenitätstest	58
4.12	Überprüfung weiterer PMV-Taubenisolate	61
4.12.1	Untersuchung der physikalisch-chemischen Eigenschaften	61

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	<u>Seite</u>
4.12.2 Vergleich der ICPI	64
4.12.3 IVPI	64
4.13 Herkunftsorte von PMV-Taubenisolaten und/oder Taubenserren mit HAH-Ak gegen PMV 14/83	68
4.14 Seuchenlage bei den Münchener Stadt- tauben in den Jahren 1983/84	68
4.15 Impfprogramme	72
4.15.1 Impfung mit Sotavax ^R	72
4.15.2 Impfung mit Lomavac ^R und Revakzina- tion mit Newcavac ^R	72
4.15.3 Impfung mit Newcavac ^R	72
4.15.4 Impfung und Revakzination mit Newcavac ^R im Abstand von 3 Monaten	73
4.16 Belastungsinfektionen bei den geimpf- ten Tauben	73
4.17 Impfkomplicationen	78
4.18 Verträglichkeit des für die Impfstoff- herstellung benutzten Trägeröls bei Tauben	78
5. Diskussion	81
6. Zusammenfassung	87
7. Literaturverzeichnis	90

1. Einleitung

Erstmals nachgewiesen im Dezember 1982 traten in der Bundesrepublik Deutschland vermehrt akute Krankheitsfälle bei Tauben auf, die sich in nervösen Störungen wie Tortikollis, anfallsweisen Drehbewegungen und Schreckempfindlichkeit äußerten. Außerdem waren eine vermehrte Wasseraufnahme und ein dünnflüssiger Kot zu beobachten (RICHTER, 1983).

Ähnliche Krankheitsfälle bei Tauben wurden auch in den Jahren 1982/83 aus Italien, Malta, der Tschechoslowakei, Spanien, Portugal, Belgien, Holland, England und Österreich gemeldet (RICHTER, 1983), so daß die Vermutung einer seuchenhaften Ausbreitung der Erkrankung innerhalb Europas nahelag.

Als Erreger wurde ein Paramyxovirus mit Antigenverwandtschaft zum Newcastle-Disease-Virus identifiziert und das 1. Virusisolat PMV 14/83 benannt.

In der vorliegenden Arbeit wird das PMV 14/83 charakterisiert sowie der Frage nachgegangen, inwieweit der Erreger auf andere Vogelspezies, insbesondere auf das Huhn, übertragbar ist.

Außerdem wird die Effizienz verschiedener prophylaktischer Impfprogramme untersucht.

2. Literatur

2.1 Einteilung der Paramyxoviren (PMV), einschließlich der aviären PMV (aPMV)

Die Familie Paramyxoviridae gliedert sich in die drei Genera:

1. Paramyxovirus
2. Morbillivirus
3. Pneumovirus

Das Genus Paramyxovirus umfaßt die Parainfluenzaviren 1 bis 5, das Mumpsvirus, das Newcastle-Disease-Virus und die aus verschiedenen Vogelspezies isolierten aviären PMV (aPMV) (ALEXANDER 1980, 1982). Aufgrund der hohen Anzahl und der weltweiten Verbreitung von aPMV bestand die Notwendigkeit einer Klassifizierung.

Diese erfolgt durch die serologische Differenzierung von aPMV-Isolaten im Hämagglutinationshemmungstest (HAH) (ALEXANDER 1980) Bislang wurden 9 verschiedene Serogruppen gebildet.

Bestätigt wurde diese Einteilung durch den Neuraminidasehemmungstest (KESSLER et al. 1979), den Serumneutralisationstest (TUMOVA et al. 1979 a), aber auch durch den Vergleich der Polypeptidprofile der einzelnen aPMV mittels der Polyacrylamidgel-Elektrophorese unter Verwendung von Natriumdodecylsulfat (SDS, ALEXANDER und COLLINS 1981).

Der Vorschlag von TUMOVA et al. (1979 b) wurde übernommen und die verschiedenen Serogruppen PMV 1 bis 9 benannt, wobei das PMV 1 die Erreger der Newcastle-Disease (ND) umfaßt.

Prototypen der 9 verschiedenen Serogruppen sind (ALEXANDER 1980, 1982):

- PMV 1: Newcastle-Disease-Virus
PMV 2: chicken/California/Yucaipa/56
(BANKOWSKI et al. 1960)
PMV 3: turkey/Wisconsin/68 (TUMOVA et al. 1979)
PMV 4: duck/Hong Kong/D3/75 (SHORTTRIDGE und
ALEXANDER 1978)
PMV 5: budgerigar/Japan/Kunitachi/74 (NEROME
et al. 1978)
PMV 6: duck/Hong Kong/199/77 (SHORTTRIDGE et al.
1980)
PMV 7: dove/Tennessee/4/75 (ALEXANDER et al.
1981)
PMV 8: goose/Delaware/1053/76 (ALEXANDER et al.
1983)
PMV 9: domestic duck/New York/22/78 (ALEXANDER
et al. 1983).

Zusätzlich zu diesen Serotypen gibt es aPMV, die bisher nicht klassifiziert werden konnten.

Zu diesen gehören:

- PMV/pigeon/Otaru/76, in Japan aus Felsentauben isoliert (KIDA und YANAGAWA 1979, 1981)
PMV/collared dove/England/23/82 (GOUGH und ALEXANDER 1982).

Neu hinzukommende aPMV-Isolate werden benannt nach (WHO EXPERT COMMITTEE 1980):

1. dem Serotyp
2. der Vogelspezies
3. dem Land bzw. Ort der Isolation
4. der Referenznummer bzw. dem Referenznamen
5. dem Jahr der Isolation.

2.2 Morphologie der PMV

PMV besitzen eine einsträngige, unsegmentierte Ribonukleinsäure (RNS).

Das Virion ist pleomorph, für gewöhnlich nahezu sphärisch (ALEXANDER 1980). Es besteht aus einem Ribonukleokapsid innerhalb einer Lipidhülle und ist genetisch stabil (BECKER 1983). Das Nukleokapsid ist helikal symmetrisch und erscheint fischgrätenmusterähnlich. Es hat einen mittleren Durchmesser von 16-18 nm und ein zentrales Loch, welches ungefähr 5 nm groß ist. Auf der Virushülle befinden sich sogenannte Spikes, die eine Länge von etwa 8 nm haben (ALEXANDER 1980).

2.3 Strukturelle Polypeptide

Zur Trennung der strukturellen Polypeptide wurde die Polyacrylamidgel-Elektrophorese mit Natriumdodecylsulfat (SDS) verwendet (ALEXANDER et al. 1979 c, ALEXANDER und COLLINS 1981). Waren reduzierende Bedingungen erwünscht, so wurden Mercaptoäthanol oder Dithiothreitol zugesetzt (ALEXANDER und COLLINS 1981).

aPMV besitzen 7-10 Polypeptide, von denen 2 glykolisiert sind (ALEXANDER 1974, ALEXANDER und COLLINS 1981).

2.3.1 Innere Proteine

2.3.1.1 Nukleoprotein (NP)

Das NP ist ein Carbohydrat-freies Polypeptid und nichtglykolyisiert. Es wird als Nukleokapsiduntereinheit angesehen (HIGHTOWER et al. 1975) und hat unter nicht reduzierenden Bedingungen ein Molekulargewicht von 53 000 - 56 000 Dalton. Unter reduzierenden Bedingungen wird ein Molekulargewicht von 51 000 - 53 000 Dalton angegeben. Das NP kann in der Komplementbindungsreaktion (KBR) und dem Agargelpräzipitationstest (AGP) dargestellt werden (HANSON 1964).

2.3.1.2 Membranprotein (MP)

Das innere Membranprotein M ist Carbohydrat-frei und nichtglykolyisiert.

Es hat unter nicht reduzierenden Bedingungen ein Molekulargewicht von 35 000 - 41 000 Dalton und unter reduzierenden Bedingungen ein Molekulargewicht von 41 000 - 44 000 Dalton.

Im Doppelimmundiffusionstest (BEARD 1970) wurden bislang die M-Proteine der aPMV pigeon/Otaru/76 und dove/Tennessee/4/75 verglichen (ABENES et al. 1983). Diese beiden PMV sind serologisch verwandt (HAH-Test, GOUGH und ALEXANDER 1983), ihre M-Proteine weisen jedoch Unterschiede auf, sodaß man beide Viren in verschiedene Serogruppen einordnen sollte (ABENES et al. 1983).

2.3.2 Äußere Proteine

Die Spikes an der Außenseite der Hülle bestehen aus Glykoproteiden (KLENK et al. 1970, KLENK 1977, MOUNTCASTLE et al. 1971). Es gibt 2 verschiedene Formen von Spikes und somit auch 2 verschiedene Glykoproteide.

Der eine Typ besteht aus HN-Glykoproteid, welches Hämagglutination (HA) bewirkt und Neuraminidase-Aktivität hat (SCHEID et al. 1972, SETO et al. 1973), der andere aus F-Glykoproteid, welches Zellfusion und Hämolyse induziert (SCHEID und CHOPPIN 1974, SETO et al. 1974). Das HN-Glykoproteid scheint für die Adsorption verantwortlich zu sein, während das F-Glykoproteid für den Penetrationsprozeß zuständig ist, d.h. für die Fusion der viralen Hülle mit der Wirtszellmembran (KLENK et al. 1977).

2.4 Verhalten von aPMV in Zellkulturen

Für die Virusvermehrung von NDV wurden neben Zellkulturen vom Geflügel u.a. Zellen vom Schwein und Kalb sowie von Affen, Menschen und Nagern mit Erfolg benutzt. Ein deutlicher cytopathogener Effekt (cpE) war in den meisten Fällen vorhanden (HANSON 1964).

Die PMV 2 können sich in Schweinenieren- und Hela-Zellen (BANKOWSKI und CORSTVET 1961), aber auch in Hühnerembryo- und Affennierenzellen (DINTER et al. 1964) vermehren. Desweiteren sind Lammnieren- und Kalbsnierenzellen sowie BHK-21-Zellen (ATCC CCL 10) und Vero-Zellen (ATCC CCL 81) geeignet (Mc FERRAN et al. 1974).

Am besten vermehren sich die PMV 2 jedoch in Hühnernierenzellen, wo sie Vakuolenbildungen, kleine Synzytien und Zelllysis verursachen (Mc FERRAN et al. 1974).

PMV 3 können sich sowohl in Affennierenzellen (TUMOVA et al. 1979) als auch in Hühnerembryo- und Schweinenierenzellen vermehren (SMIT und RONDHUIS 1976). Desweiteren werden auch Hühnernierenzellen verwendet (ALEXANDER und SHORTRIDGE 1979).

Für das PMV parakeet/Netherlands/449 sind vor allem Entenembryozellen geeignet, in denen sich das Virus jedoch ohne cpE (SMIT und RONDHUIS 1976) vermehrt.

Bei PMV 4 kommen Hühnerembryo-, aber auch Hühnernierenzellen in Frage, in denen das Virus kleine, diskrete Synzytien bildet (ALEXANDER und SHORTRIDGE 1979).

PMV 5 vermehrt sich in Hühnerembryozellen ohne cpE (NEROME et al. 1978).

PMV 6 bildet kleine Synzytien in Hühnernierenzellen (SHORT-RIDGE et al. 1980) und PMV 7 vermehrt sich am besten in Hühnernierenzellen (ALEXANDER et al. 1981).

Die PMV 8 und 9 vermehren sich in Hühnernierenzellen, jedoch ohne cpE und ohne Synzytienbildung (ALEXANDER et al. 1983).

2.5 PMV 1 = Newcastle-Disease-Virus (NDV) bei Hühnern

2.5.1 Geschichte der Newcastle-Disease (ND)

Die ND trat erstmals 1926 auf der Insel Java/Indonesien auf (KRANEVELD 1926), wurde jedoch erst bei einem Krankheitsausbruch in Newcastle-on-Tyne (DOYLE 1927) als Viruserkrankung erkannt.

Infizierte Hühner zeigten respiratorische und nervöse Krankheitsanzeichen. Morbidität und Mortalität lagen zwischen 98 und 100%; die Inkubationszeit betrug 4-11 Tage.

Jahre später trat in Kalifornien eine Krankheit auf, die durch sehr milde respiratorische und nervöse Krankheitsanzeichen gekennzeichnet war und bei der die Mortalität weniger als 15% betrug.

Diese, als "Pneumoencephalitis" bezeichnete Erkrankung (BEACH 1943), wurde kurz darauf als ND erkannt (BEACH 1944).

Heute ist die ND weltweit verbreitet (LANCASTER und ALEXANDER 1975).

Aus Feldausbrüchen der ND wurden zahlreiche Isolate des PMV 1 angezüchtet, die in unterschiedliche Pathotypen eingeordnet wurden (2.5.4).

2.5.2 Klinische Erscheinungsformen bei Hühnern

Es gibt zahlreiche Faktoren, die den Verlauf von ND-Virusinfektionen beeinflussen (BRUGH und BEARD 1975). In erster Linie werden die klinischen Erscheinungsformen von dem für die jeweilige Infektion verantwortlichen NDV-Stamm bestimmt (HANSON 1975).

Velogene ND-Viren

a) Viscerotrop velogene ND-Viren (VVNDV)

Auffallend ist der grünlich-mukoide Durchfall der erkrankten Tiere sowie das Auftreten von Ödemem im Kopfbereich (SPALATIN et al. 1973). Klinisch erkrankte Tiere sterben oftmals nach 2 bis 6 Tagen und die Mortalitätsrate kann auf über 90% ansteigen.

HANSON et al. (1972) nennen als Charakteristikum der durch VVNDV hervorgerufenen Erkrankung hämorrhagische Läsionen des Intestinals.

b) Neurotrop velogene ND-Viren

Bei der von neurotrop velogenen ND-Viren hervorgerufenen Erkrankung form stehen nervöse Krankheitsanzeichen im Vordergrund, die sich in Inkoordination, Tremor und Parese äußern. Außerdem ist ein Abfall in der Eiproduktion festzustellen.

Die Mortalität schwankt zwischen 10 und 90% (HANSON 1978).

Mesogene ND-Viren

Typisch ist die rasche Ausbreitung innerhalb eines Bestandes und das Auftreten von respiratorischen Symptomen, die von nervösen Krankheitsanzeichen gefolgt werden.

Die Eiproduktion und -qualität sinken und die Mortalität kann gelegentlich bis auf 50% ansteigen (LANCASTER 1981 a).

Lentogene ND-Viren

Die von ihnen hervorgerufene Erkrankung kann inapparent verlaufen oder sich in respiratorischen Symptomen äußern. Oftmals ist ein plötzlicher Abfall in der Eiproduktion sowie eine Reduktion der Futteraufnahme festzustellen.

Nervöse Krankheitsanzeichen fehlen für gewöhnlich.

Bei erwachsenen Tieren ist eine Erholung innerhalb von 1 bis 8 Wochen möglich.

In sehr jungen Tieren können eine milde Tracheitis und Aerosacculitis auftreten (LANCASTER 1981 a).

2.5.3 Empfänglichkeit der verschiedenen Vogelspezies für das NDV

Grundsätzlich hängt die Empfänglichkeit für eine natürliche oder experimentelle Infektion mit NDV nicht nur vom Pathotyp, sondern von zahlreichen weiteren Faktoren ab (BEARD und BRUGH 1975):

1. von der Vogelspezies

Das Infektionsspektrum von ND-Viren umfaßt unter natürlichen Bedingungen nicht nur die Haushühner, obwohl diese Spezies am

häufigsten erkrankt (LÜTHGEN und WACHENDÖRFER 1970), sondern auch Fasane, Rebhühner und Wachteln (LANCASTER 1975). Tauben, Gänse und Enten erkranken seltener (REUSS 1961, PALMER und TRAINER 1971).

2. von der Virusmenge (KARZON und BANG 1951)
3. vom Infektionsweg (BEARD und EASTERDAY 1967)
4. vom Alter der Vögel (LANCASTER 1966, ERICKSON et al. 1979)
5. von der Populationsdichte (GARSIDE 1966)
6. von der Passagezahl des Virus (HANSON et al. 1980).

2.5.4 Pathotypen der ND

Die einzelnen NDV-Isolate werden nach Pathotypen in velogene, mesogene und lentogene Stämme eingeteilt (HANSON und BRANDLY 1955). Damit will man die Virulenz von ND-Viren zum Ausdruck bringen. Kriterien für die Virulenz eines NDV-Stammes sind (Methods for examining poultry biologics 1971):

1. Die Mean Death Time (MDT)
2. Der Intracerebrale Pathogenitätsindex (ICPI)
3. Der Intravenöse Pathogenitätsindex (IVPI)

	M D T h	I C P I	I V P I
lentogene NDV	96-168	0,0-0,4	0,0
mesogene NDV	44-70	0,4-1,9	0,0-0,5
velogene NDV	40-70	2,0-3,0	0,5-2,8

nach ALLAN et al. 1978

Zusätzlich können die "Cloacal Mean Death Time" (CMDT, ALEXANDER und ALLAN 1974) und die Plaquemorphologie (Allan et al. 1978) als Bewertungskriterien für NDV-Stämme hinzugezogen werden.

2.5.5 Plaquemorphologie

Velogene NDV-Stämme haben eine größere Plaquevielfalt als mesogene, die oft nur einen einzigen Plaquetyp aufweisen (SCHLOER und HANSON 1968 b) und nur kleine Plaques bilden (SCHLOER und HANSON 1968 a). Bei lentogenen werden nur selten Plaques gefunden (SCHLOER und HANSON 1968 a).

SCHLOER und HANSON gelangten 1971 zu der Auffassung, daß die Virulenz eines NDV-Stammes mit der Größe der gebildeten Plaques korreliert.

GOMEZ-LILLO schrieb 1974, daß die morphologischen Charakteristika von Plaques nicht als einziges Kriterium für die Differenzierung von verschiedenen Pathotypen verwendet werden können.

2.6 NDV bei Tauben

2.6.1 Natürliche Infektionen

Tauben gelten als relativ resistent gegenüber einer natürlichen Infektion mit NDV (REUSS 1961; AHMED und REDA 1967; HILBRICH 1972).

ULBRICH und SODAN berichteten 1965 über die Isolierung von NDV aus Taubenorganen. Innerhalb 1 Woche waren 8 von 26 Tauben ohne äußere Krankheitsanzeichen verendet. Die Tiere hatten sich lediglich kurz vor ihrem Tod von den übrigen Tieren abgesondert.

1971 wurde ND in Yorkshire/England bei Rassetauben (*Columba livia*) festgestellt (STEWART 1971).

Die Tiere waren unter dem klinischen Bild einer Encephalitis mit Inkoordinationen der Bewegungen erkrankt. Die hervorstechendsten Symptome waren die Schräghaltung von Kopf und Nacken und eine geringgradige Parese von Beinen und Flügeln. Außerdem schien die Sehfähigkeit beeinträchtigt zu sein.

Gegen Ende des Jahres 1971 wurde ND in einem Brieftaubenbestand in der Bundesrepublik Deutschland beobachtet (GREUEL 1972).

Die Krankheitssymptome bestanden in gesträubtem Gefieder, Apathie, Abmagerung und Flugunfähigkeit (HILBRICH 1972)

RICHTER und GOOSENS berichteten 1971 über ein natürliches Vorkommen von ND bei Tauben in den Niederlanden.

Die beschriebenen Krankheitsausbrüche bei Tauben standen im Zusammenhang mit einer ND-Pandemie, die Anfang der 70iger Jahre bei Hühnern festgestellt wurde (VINDEVOGEL 1972).

In jüngerer Zeit wurden im Norden Italiens mehrere Fälle von Encephalitis bei Tauben beobachtet (DALLA SALDA 1981).

Die erkrankten Tiere zeigten die klassischen Symptome einer Encephalitis mit Tortikollis und Manegebewegungen. Sie hatten darüberhinaus eine Rhinitis und Konjunktivitis.

Der Erreger wurde als mesogener NDV-Stamm klassifiziert (VINDEVOGEL et al. 1983).

In Belgien konnten drei lentogene NDV-Stämme aus Tauben isoliert werden (VINDEVOGEL et al. 1982). Die Tiere hatten lediglich respiratorische, aber keine nervösen Krankheitsanzeichen.

2.6.2 Künstliche Infektion bei Tauben

AHMED und REDA (1967) vertraten die Auffassung, daß Tauben gegenüber einer natürlichen Infektion mit NDV relativ resistent, gegenüber einer künstlichen jedoch empfänglich sind.

Sie injizierten 8 NDV-Stämme intracerebral und intramuskulär in Tauben.

Im Gegensatz zu den mesogenen (Infektionsdosis $10^{7,6}$ ELD₅₀/ml) und velogenen Stämmen (Infektionsdosis $10^{8,2}$ bis $10^{8,6}$ ELD₅₀/ml) verursachten die lentogenen (Infektionsdosis $10^{8,0}$ bis $10^{9,3}$ ELD₅₀/ml) weder äußere klinische Krankheitsanzeichen noch eine HAH-Antikörperbildung. Die mesogenen und velogenen Stämme hingegen riefen eine akute Erkrankung hervor, wobei die Mortali-

tätsrate von dem Grad der Virulenz und dem Inokulationsweg des injizierten NDV-Stammes abhing.

REUSS untersuchte 1961 die "Empfänglichkeit der Haustauben für die atypische Geflügelpest".

Er infizierte jeweils 5 Tauben mit 0,03 ml "Testvirus" intramuskulär und intravenös. 10 Versuchstauben wurden mit der gleichen Menge "Testvirus" peroral infiziert.

Nach intravenöser Injektion starben 3 Tiere zwischen dem 3. und 5. Tag; die Überlebenden Versuchstauben zeigten bis zur 4. Woche post infectionem (p.i.) Flugunfähigkeit, lokale Paresen, Kopfverdrehung und Zwangsbewegungen.

Nach intramuskulärer Injektion starben alle Tiere in der Zeit vom 6. bis 8. Tag p.i..

Nach oraler Infektion verendeten nur 3 von 10 Vögeln am 13., 15. und 21. Tag p.i.. Als Kontrolle wurden Hühnerküken mit der gleichen Virusmenge infiziert. Sie starben am 5. bis 8. Tag p.i..

ERICKSON et al. (1979) infizierten 21 juvenile und 10 adulte Tauben auf intraokulärem Weg mit $10^{6,1}$ ELD₅₀ des viscerotrop-velogenen NDV-Stammes (VVNDV-Stammes) Fontana. 9 der 21 juvenilen und 5 der 10 adulten Tauben erkrankten und zeigten Opisthotonus, Flügellähme und Beinparalyse. 7 von 9 juvenilen Tauben starben, während nur 1 von 5 adulten Tauben verendete.

VINDEVOGEL (1972) infizierte Tauben intramuskulär, intranasal und intracerebral mit 10^6 ELD₅₀ eines velogenen NDV-Stammes, welcher aus einer Taube mit nervösen Krankheitsanzeichen isoliert worden war.

Intramuskulär infizierte Tauben

Die Inkubationszeit variierte zwischen 3 und 15 Tagen. Die 10 Tiere zeigten die Symptome der Pseudopest. 9 Tauben starben 3 bis 15 Tage nach dem Auftreten der ersten Symptome. Ein Tier überlebte.

Intranasal infizierte Tauben

Die Inkubationszeit variierte zwischen 6 und 16 Tagen. 5 Tauben starben 3 bis 34 Tage nach dem Auftreten von Krankheitsanzeichen. 2 Tiere zeigten keine Symptome.

Intracerebral infizierte Tauben

Die Inkubationszeit betrug 3 bis 5 Tage. 4 Tauben starben 4 bis 12 Stunden nach Krankheitsbeginn.

2.6.3 ND-Übertragung Taube - Huhn

ERICKSON et al. beschrieben 1979 eine experimentelle Übertragung von velogenem NDV mit dem Kot infizierter Tauben auf Hühner.

21 juvenile Tauben wurden mit $10^{6,1}$ ELD₅₀ des VVNDV-Stammes Fontana infiziert.

4 Tage p.i. wurden 2 Gruppen von jeweils 5 Hühnern dem Kot der infizierten Tauben ausgesetzt.

16 Tage nach Infektion der Tauben zeigte ein Huhn klinische Krankheitsanzeichen und starb 4 Tage später.

Trotz Entfernung der beiden Hühnergruppen starben innerhalb von 7 Tagen weitere 4 Hühner.

VINDEVOGEL (1972) inokulierte 10^6 LD₅₀ eines velogenen NDV-Taubenisolates intramuskulär in Tauben. Als Kontakttiere verwendete er 5 Hühner.

Die Kontakthühner starben 9 bis 17 Tage post expositionem (p.e.).

REUSS (1961) infizierte 4 Tauben peroral mit 0,03 ml ND-"Testvirus".

24 Stunden p.i. wurden 15 Kontakthühner zu den infizierten Tauben gesetzt.

Am 6. Tag p.i. zeigte eine Taube klinische Krankheitsanzeichen (Flugunfähigkeit und Zwangsbewegungen) und verendete am 8. Tag p.i..

Die 15 Kontakthühner starben zwischen dem 7. und 15. Tag p.e..

2.6.4 ND-Übertragung Huhn - Taube

ERICKSON et al. (1979) infizierten ein Huhn mit $10^{9,0}$ ELD₅₀ des VVNDV-Stammes Largo.

2 Tage p.i. wurde das infizierte Huhn mit 5 juvenilen Tauben in Kontakt gebracht und starb am 4. Tag p.i..

Die Kontakttauben wurden über 4 Wochen beobachtet. 2 von 5 Tauben zeigten am 24. Tag p.e. klinische Krankheitsanzeichen.

VINDEVOGEL (1972) infizierte 5 Hühner intramuskulär mit 10^6 LD₅₀ eines velogenen NDV-Taubenisolates. Als Kontakttiere dienten 5 Hühner und 10 Tauben.

11 bis 13 Tage nach Infektion der Hühner zeigten die Kontakttauben klinische Krankheitsanzeichen.

Die 5 infizierten Hühner starben zwischen dem 3. und 5. Tag p.i., die 5 Kontakthühner 3 bis 6 Tage später.

2.6.5 Virusausscheidung nach künstlicher Infektion mit NDV

Nach Inokulation von $10^{6,1}$ ELD₅₀ des VVNDV-Stammes Fontana in juvenile und adulte Tauben konnte festgestellt werden, daß die Virusausscheidung mit dem Kot bei den juvenilen Vögeln vom 3. Tag p.i. bis zum 21. Tag p.i. anhielt, während sie bei den adulten Tieren nur am 3. und 7. Tag p.i. nachgewiesen werden konnte (ERICKSON et al. 1979).

VINDEVOGEL (1972) beschrieb, daß die Tauben, die mit intramuskulär infizierten Hühnern (Infektionsdosis 10^6 LD₅₀) in direktem oder indirektem Kontakt gebracht wurden, das Virus 14 Tage nach Versuchsbeginn mit dem Kot ausschieden. Zu diesem Zeitpunkt waren auch die ersten Krankheitssymptome aufgetreten.

10 und 20 Tage später war keine Virusausscheidung im Kot mehr feststellbar.

REUSS (1961) infizierte 5 Tauben intramuskulär, 5 Tauben intravenös und 10 Tauben peroral mit 0,03 ml "Testvirus" (siehe Kap. 2.6.2). Die Virusausscheidung mit dem Kot erfolgte bei den intramuskulär und intravenös infizierten Tauben vom 2. bis 10. Tag p.i..

Nur eine der 10 peroral infizierten Tauben schied das Virus mit dem Kot aus. Der Virusnachweis gelang am 14. Tag p.i..

2.6.6 Paramyxovirose der Tauben in Deutschland

In Deutschland wurde im Dezember 1982 in einem bayerischen Rassetaubenbestand eine Paramyxoviruserkrankung bei Tauben festgestellt, die nicht in Zusammenhang mit einer ND bei Hühnern stand.

Die infizierten Tiere zeigten folgende Symptome (RICHTER 1983):

1. Durchfallähnliche Erscheinungen, wobei der grünlich-bräunliche Kotanteil geformt bis breiig war und in einer Lache aus wäßrig-weißlicher Flüssigkeit lag.
2. Vermehrte Wasser- und herabgesetzte Futteraufnahme.
3. Teilweise ein- oder beidseitige Lähmungen der Ständer, die durch eine Nierenschwellung mit Kompression im Bereich des Plexus lumbosacralis verursacht wurden.
4. Zentralnervöse (ZNS-) Störungen, die sich bei etwa 5 bis 20 Prozent der so erkrankten Tiere anschließend einstellten und sich in Inkoordination, Drehbewegungen, Tortikollis und vermehrter Schreckhaftigkeit äußerten. Diese ZNS-Erscheinungen ließen sich durch äußere Reize (Licht, Auffliegen anderer Schlaginsassen etc.) auslösen.
5. Ein- oder beidseitige Flügel lähmung.
6. Geringes, meist einseitiges Lidödem, das den Lidspalt verengte. Nestjunge Tiere erkrankten meist unter Lähmungs- und Polyurieerscheinungen mit höherer Mortalität.

Im gleichen Stallabteil waren unter anderem 26 Hühner (*Gallus gallus* L. 1758 var.dom.), 3 Pfaue (*Pavo cristatus* L. 1758), 60 Fasane (Unterfamilie Phasianinae) und 2 nicht näher bestimmte Exemplare der Familie der Cracidae (Hokkohühner) untergebracht, die klinisch unauffällig blieben.

Bei den Hühnern, Pfauen und Hokkohühnern lag jedoch eine generelle Serokonversion vor.

9 von 20 Fasanen waren zum Zeitpunkt der Blutentnahme serologisch negativ.

Im Verlauf des Jahres 1983 konnte die Krankheit bzw. Antikörper gegen den Erreger in mehreren Bundesländern bei Rasse-, Reise- und verwilderten Stadtauben festgestellt werden.

Die oben beschriebenen Krankheitssymptome zeigten sich in den Beständen graduell sehr verschieden.

Eine Besserung und klinische Ausheilung erfolgte oftmals nach 2 bis 4 Wochen.

Pathologisch-anatomisch zeigten sich kaum Veränderungen.

Am auffälligsten waren nur unregelmäßig zu beobachtende Hyperämie und Schwellung parenchymatöser Organe, vor allem des Gehirns, geringgradige Enteritis catarrhalis und Blutungen in der Schädelkalotte.

Bei dem 1. Virusisolat handelte es sich um ein PMV, das im HAH eine Antigenverwandtschaft zum NDV, Stamm Montana, aufwies. Hühnerembryonen starben nach Verimpfung des Isolates in die Allantoishöhle durchschnittlich nach 96 Stunden mit einer ausgeprägten Hyperämie der Haut, Verzweigung und Hepatitis ab. Die Amnion-Allantoisflüssigkeit (AAF) agglutinierte 1%ige Erythrozyten von Huhn, Taube, Pute, Moschus- und Khaki-Campbell-Enten, Rind und Mensch der Blutgruppe O.

Die Thermostabilität des Hämagglutinins war größer als die der ND-Stämme Montana und La Sota.

In der Zellkultur zeigte das Taubenisolat der 4. Eipassage einen deutlichen cytopathogenen Effekt nach 16 Stunden sowohl im primären Hühnerembryo- als auch Entenembryofibroblasten (Pekingente).

Auffällig waren dabei Zellsynzytien, Vakuolenbildung, Abkuglung und Ablösung von granulierten Riesenzellen, wobei der cytopathogene Effekt in den niedrigsten Verdünnungsstufen deutlich schwächer ausgebildet war.

Unter einem halbfesten Agarmedium konnten nach 96 Stunden mit der Neutralrotfärbung kleine, aber deutlich ausgeprägte Plaques dargestellt werden. Das Zentrum dieser Plaques bestand aus nicht anfärbbaren toten Zellen, die von vermehrt anfärbbaren proliferativen und stoffwechselaktiven Fibroblasten umgeben wurden. In einigen Fällen fehlte das lytische Zentrum, sodaß die Plaques als kleine rote Plaques mit 1 mm Durchmesser erschienen.

2.6.7

Impfprogramme gegen NDV bei Tauben

Vakzinationsversuche gegen die Newcastle-Krankheit mit der 5-fachen Hühnerdosis eines Lebendimpfstoffes über das Trinkwasser bzw. mittels Spray oder durch parenterale Injektion eines Totadsorbatimpfstoffes (1 ml intramuskulär (i.m.)) führten nur im letzten Fall 3 Wochen post vaccinationem (p.vacc.) zur Ausbildung humoraler Antikörper und 6 Wochen p.vacc. zu einer vollständigen Immunität nach einer i.m.-Be-lastungsinfektion mit dem velogenen NDV-Stamm 574/70 (LÜTHGEN 1975).

ERICKSON et al. (1979) führten 8 Impfprogramme in adulten Tauben durch.

Zur Anwendung kam ein La Sota-Lebendimpfstoff (1-fache und 5-fache Hühnerdosis), ein Aluminiumhydroxid-Adsorbat-Impfstoff und eine inaktivierte Ölemulsionsvakzine.

1. Impfprogramm

1 x La Sota-Lebendimpfstoff (1-fache Hühnerdosis), intraokulär (i.o.).

2. Impfprogramm

2 x La Sota-Lebendimpfstoff (1-fache Hühnerdosis), im Abstand von 6 Wochen, i.o..

3. Impfprogramm

1 x La Sota-Lebendimpfstoff (5-fache Hühnerdosis), i.o..

4. Impfprogramm

1 x Aluminiumhydroxid-Adsorbat-Vakzine, subcutan (s.c.).

5. Impfprogramm

2 x Aluminiumhydroxid-Adsorbat-Vakzine im Abstand von 6 Wochen, s.c..

6. Impfprogramm

1 x Ölemulsionsvakzine, i.m.

7. Impfprogramm

2 x Ölemulsionsvakzine im Abstand von 6 Wochen, i.m.

8. Impfprogramm

1 x La Sota-Lebendimpfstoff (5-fache Hühnerdosis), i.o.

Revakzination mit 1 x Ölemulsionsvakzine nach 6 Wochen, i.m..

Die HAH-Antikörperbildung war in den mit Ölemulsionsvakzine geimpften Vögeln am höchsten. Sie stieg bis zur 6. Woche p.vacc. an.

In der 4. Woche p.vacc. war der höchste HAH-Antikörpertiter in den Vögeln vorhanden, die mit La Sota-Lebendimpfstoff und Aluminiumhydroxid-Adsorbat-Vakzine geimpft worden waren.

In revakzinierten Vögeln war die höchste HAH-Antikörperbildung in der 8. Woche p.vacc. festzustellen.

6 Wochen nach der letzten Impfung fand eine i.o.-Belastungsinfektion mit $10^{9,4}$ EID₅₀ des VVNDV Largo statt.

Die einmalige Vakzination mit La Sota-Lebendimpfstoff, Aluminiumhydroxid-Adsorbat-Vakzine oder Ölemulsionsvakzine führte zu keiner vollständigen Immunität.

Eine Vakzination und Revakzination mit La Sota-Lebendimpfstoff oder Aluminiumhydroxid-Adsorbat-Vakzine führte zu einem weniger guten Schutz als die einmalige Vakzination.

Die durchschnittliche Morbidität und Mortalität von 18,5 % wurde auf 13 % gesenkt, wenn Tauben nicht nur einmal, sondern zweimal mit Ölemulsionsvakzine im Abstand von 6 Wochen geimpft wurden.

Nur die Tauben, die mit La Sota-Lebendimpfstoff, 5-fache Hühnerdosis, vakziniert und mit Ölemulsionsimpfstoff revakziniert worden waren, zeigten sich bei einer Infektion mit VVNDV-Largo vollständig geschützt.

2.6.8 Serologische Untersuchungen über
die HAH-Antikörperbildung gegen
verschiedene aPMV bei Tauben

Im Rahmen einer retrospektiven Studie wurden 1257 Seren von Brieftauben aus dem gesamten Bundesgebiet auf Antikörper gegen aPMV 1 (Virus der ND), aPMV 2 (chicken/California/Yucaipa/56) und aPMV 3 (turkey/Wisconsin/68) mittels Hämagglutinationshemmungstest (HAH) untersucht (KALETA und HEFFELS 1982).

In keinem der Seren fanden sich Antikörper gegen das Virus der ND (KALETA und HEFFELS 1982).

Gegen das PMV 2 waren in etwa 1/4 der 465 Seren der Jahre 1979/80 Antikörper vorhanden, wobei in 2 Fällen im HAH Titer in Höhe von 1:256 erreicht wurden.

1/4 der in den Jahren 1979/80 gewonnenen Taubenserren hatten Antikörper gegen das aPMV 3, wobei jedoch die erreichten HAH - Titer etwas niedriger lagen als die gegen das Yucaipa-Virus. Der höchste HAH-Titer betrug 1:64 (KALETA und HEFFELS 1982). Die Tatsache, daß in keinem der Taubenserren Antikörper gegen das NDV gefunden wurden, beurteilten HEFFELS et al. 1981 in der Weise, daß "der Newcastle-Disease bei der Taube zur Zeit keine Bedeutung beigemessen zu werden braucht". Die Autoren betonten jedoch, daß im Untersuchungszeitraum (1976-1979) auch beim Wirtschaftsgeflügel keine Krankheitsausbrüche, hervorgerufen durch NDV, bekannt geworden waren und daß deshalb über eine mögliche Überträgerrolle der Taube keine Aussage gemacht werden könne.

Im Jahre 1979 wurden 2 PMV aus Tauben isoliert.

Dove/München/1/79 und dove/München/2/79 wurden aufgrund serologischer Untersuchungen (HAH) in die Serogruppe III eingeordnet (OTTIS und BACHMANN 1983). Die Autoren betonten jedoch, daß die Virusisolate aus Tauben stammten, die in einer Klinik gegen verschiedene Krankheiten behandelt worden waren, so daß man annehmen mußte, daß die Viren in einem Patienten vorhanden gewesen waren und schließlich von einem Vogel zum anderen übertragen wurden (OTTIS und BACHMANN 1983).

2.7

Andere aPMV bei Tauben

Von Trauertauben (am. Turteltauben, *Zenaidura macroura*) wurde in Tennessee, USA ein PMV isoliert und dove/Tennessee/4/75 bezeichnet (ALEXANDER et al. 1981).

Das Virusisolat wurde aufgrund serologischer Untersuchungen (HAH-Test) in die 7. Serogruppe der aPMV eingeteilt.

1976 wurde ein als PMV identifiziertes hämagglutinierendes Virus aus dem Atmungstrakt einer Felsentaube (*Columba livia*) in Hokkaido/Japan isoliert. Serologisch unterschied sich das isolierte Virus von den bisher bekannten aPMV.

6 von 160 in Hokkaido gefangenen Tauben besaßen Antikörper gegen das Virus, das als PMV pigeon/Otaru/76 bezeichnet wurde. Das Isolat war extrem hitzestabil. Eine 24-stündige Einwirkung von 56°C hatte keinen Einfluß auf den Hämagglutinations- (HA) - Titer.

Eine 180-minütige Einwirkungszeit von 60°C ließ den HA-Titer auf die Hälfte, eine 300-minütige auf 0 sinken.

Pigeon/Otaru/76 zeigte sich weder virulent für adulte Tauben noch stimulierte es in ihnen eine Antikörperbildung (KIDA und YANAGAWA 1979).

Aus den caecalen Tonsillen von toten Türkentauben (*Streptopelia decaocto*) wurde 1982 ein PMV isoliert, das für experimentell infizierte Tauben und Hühner apathogen war und in beiden Spezies nur eine geringe Antikörperbildung hervorrief. Im Kreuz-HAH zeigte das Virus eine Antigenverwandtschaft mit dem PMV 7/dove/Tn/4/75 und dem PMV pigeon/Otaru/76 (GOUGH und ALEXANDER 1983).

3. Eigene Untersuchungen

3.1 Material

3.1.1 Versuchstiere

Im Folgenden wurde die Nomenklatur und Systematik nach WOLTERS (1975-1982) verwendet.

3.1.1.1 Tauben (Columba livia Gmel. 1789 var.dom.)

Die Versuchstauben waren Eigentum des Instituts für Geflügelkrankheiten in Oberschleißheim und setzten sich aus Brief- und Rassetauben (Hannover'sche Tümmeler, Gimpel) zusammen.

Sie wurden in Drahtkäfigen (88 x 78 x 58cm) in Gruppen von jeweils 5 Tieren gehalten.

Die Tiere waren frei von Antikörpern gegen PMV 14/83, NDV-Montana sowie von Salmonellen, Chlamydien und Parasiten.

3.1.1.2 Junghähne (Gallus gallus L. 1758 var.dom.)

Eintagsküken und Versuchshähne wurden aus Valo^R - Eiern erbrütet und bis zur Verwendung unter Spf-Bedingungen gehalten. Für die Herstellung von Gewebekulturen und für die Virusvermehrung wurden ebenfalls Valo^R - Eier verwendet.

3.1.1.3 Mohrenkopfpapageien (Poicephalus senegalus L. 1766)

Die Papageien wurden 1981 aus Afrika importiert und dem Institut zur Verfügung gestellt. Während einige Tiere geimpft waren, hatten die übrigen keine Antikörper gegen NDV und PMV 14/83.

3.1.1.4 Wellensittiche (Melopsittacus undulatus Shaw 1805)

Die Wellensittiche stammten aus institutseigener Zucht. Einige Tiere waren gegen ND geimpft (siehe Kap. 3.3.1).

Die übrigen waren frei von Antikörpern gegen NDV und PMV 14/83.

3.1.1.5 Haltung während der Infektionsversuche

Während der Infektionsversuche wurden die Tiere bei beliebiger Wasser- und Futteraufnahme in Unterdruck-Isolatoren (158cm x 58cm x 60cm) der Firma Kleinfeld, Hannover gehalten. Die Einstreu bestand aus Sägemehl und Holzspänen.

Während die Mohrenkopfpapageien und Wellensittiche in Drahtkäfigen eingeschleust wurden, konnten sich die Tauben und Junghähne auf Drahtgitterrosten bewegen.

Die Temperatur in den Isolatoren betrug bei den Eintagsküken 37°C und bei den übrigen 20°C.

3.1.1.6 Fütterung

Tauben: Economic-Taubenfutter^R

HRA 125.191

Dazu wurden Naturalgrit^R und Gerste gegeben.

Junghähne: Club-Alleinkorn J^R für Junghennen,
Nr. 3081, pelletiert.

Zusätzlich wurde Muschelschalenschrot angeboten.

Eintagsküken: Club-Alleinkorn K^R für Küken,
Nr. 3041, pelletiert.

Mohrenkopfpapageien: Papageienfuttermischung
aus Sonnenblumenkernen, Hafer, Gerste, Erd-
nüssen, Zirbelnüssen und Mais.

Dazu wurden Muschelschalenschrot und Grit angeboten.

Wellensittiche: Handelsübliches Wellensittich-
futter wurde zur Verfügung gestellt.

3.1.2

Virusstämme

PMV 14/83, aus Tauben isoliert
(RICHTER und KÖSTERS 1983).

Amnion- und Allantoisflüssigkeit aus infizierten, embryonierten Eiern.

NDV, Stamm Montana,
Amnion- und Allantoisflüssigkeit aus infizierten embryonierten Eiern.

PMV 2: chicken/California/Yucaipa/56, 10. Eipassage

PMV 3: turkey/Wisconsin/68, 13. Eipassage

PMV 3: parakeet/Netherlands/449, 10. Eipassage

PMV 4: duck/Hong Kong/D 3/45

PMV 6: duck/Hong Kong/199/77

PMV 7: dove/Tennessee/4/75, 8. Eipassage

PMV 9: domestic duck/New York/22/78.

Die Paramyxoviren 2,3,4,6,7 und 9 mit den korrespondierenden homologen Antiseren wurden von Dr. D.J.ALEXANDER, New Haw, Weybridge, Surrey, England zur Verfügung gestellt. Die Viren wurden in 9-tägig embryonierten Eiern vermehrt, die infektiöse AAF in 2,5 ml-Portionen bei -80°C eingefroren.

Die Antiseren wurden bei -20°C aufbewahrt.

3.1.3

Impfstoffe zur Schutzimpfung gegen die
atypische Geflügelpest

Newcadin^R, Charge-nr. 56

Inaktivierte Geflügelpest Vakzine in Emulsionsform der
Firma Evans, Medical Ltd., Liverpool.

Newcavac^R, Charge-nr. 02910 und 03919

Inaktivierte Ölemulsionsvakzine der Firma Vemie, Kempen.

Sotavax^R, Charge-Nr. 1114021

Lyophilisierter Lebendvirusimpfstoff in Trockensubstanz der Firma Vemie.

Lomavac^R, Charge-nr. 701415

Aluminiumhydroxid-Adsorbat-Lebend-Vakzine der Firma TAD, Cuxhaven.

3.1.4 Medien für Zellkulturen

3.1.4.1 Medien für primäre HEF

MEM-Earle 10-fach	Seromed Nr. 0333/100 ml
L-Glutamin 200 mM	Seromed Nr. 0282/ 10 ml
Natriumbicarbonat (NaHCO ₃ 7,5%)	29,3 ml
Aqua dest. steril	ad 1000 ml.

Dem Medium wurde ferner 10% einer 1,5%igen Lactalbumin Hydrolysate-Lösung (Difco-Nr. 5996-01) mit 0,9% Tryptosephosphat, Broth (Difco Nr. 0060-0 1-6) hinzugefügt.

Dieses Medium wurde als Wasch- und Verdünnungsmedium oder mit 5%igem bzw. 2%igem fetalem Kälberserum (FKS) (Seromed Nr. 0113) als Wachstums- bzw. Erhaltungsmedium verwendet.

3.1.5 Agaroverlay

Der Agaroverlay wurde durch Vermischen gleicher Volumina doppelt konzentrierten Erhaltungsmediums mit in Aqua dest. verflüssigtem, 2%igen Bacto-Agar (Difco Nr. 0140-01) hergestellt. Zum Gebrauch wurde das Gemisch auf 43°C im Wasserbad eingestellt.

3.1.6 Phosphate buffered saline (PBS), pH 7,2

NaCl	8,0	g
KCl	0,2	g
Na ₂ H PO ₄ x H ₂ O	1,44	g
KH ₂ PO ₄	0,2	g
Aqua dest. ad	1000	ml

3.1.7 Materialien für die elektronenmikroskopischen
Aufnahmen

Phosphorwolframsäure, 2 %, pH 7,35
Elektronenmikroskop EM 10C der Firma Zeiss
Graphic Arts Film der Firma Du Pont
Kodak D 19 - Entwickler

3.1.8 Puffer für die Virusreinigung

STE-Puffer x 10

1 M NaCl
0,1 M Trishydroxymethylaminomethan (Tris)
0,01 M EDTA
ad 1000 ml Aqua dest.

Dieser Puffer wurde zum STE-Puffer x 1 verdünnt.

3.1.9 SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese

3.1.9.1 Zusammensetzung der Gele

Trenngel (12,5 %)

40 % Acrylamid	)	12,5 ml
1 % Methylenbisacrylamid	)	
Aqua dest.		10,5 ml
1 M Tris/HCl pH 8,7		15 ml
20 % Natriumdodecylsulfat		0,2 ml
(SDS)		
10 % Ammoniumperoxidsulfat		0,2 ml
(APS)		
TEMED		0,03ml

Sammelgel (5 %)

40 % Acrylamid	)	
1 % Methylenbisacrylamid	)	1,25 ml
Aqua dest.		7,42 ml
1 M Tris/HCl pH 6,8		1,25 ml
20 % SDS		0,05 ml
10 % APS		0,05 ml
TEMED		0,008ml

3.1.9.2 Zusammensetzung des Probenpuffers (x 2)

0,13 M Tris/HCl pH 6,8
4 % SDS
20 % Glycin
10 % Mercaptoäthanol
0,5 % Bromphenolblau

3.1.9.3 Zusammensetzung des Elektrophoresepuffers

Tris 3,02 g pH 8.
Glycin 14,4 g
Aqua dest. ad 1000 ml
SDS 0,1 %

3.1.9.4 Markerlösungen

PMV-Sendai-Gesamtproteine

HN - Protein	72 000 Dalton
NP - Protein	60 000 Dalton
F - Protein	48 000 Dalton
M - Protein	34 000 Dalton

3.1.9.5 Zusammensetzung der Färbe- und Entfärbelösung

Färbelösung:

Coomassie Brilliant Blue	1 g
Essigsäure	100 ml
Methanol	500 ml

Entfärbelösung:

Methanol	150 ml
Essigsäure	150 ml
H ₂ O	ad 1000 ml.

3.1.9.6 Reagenzien für die Silberfärbung

Äthanol	10 %
---------	------

Herstellung der Glutaraldehydlösung:

Natrium-Kakodylat	0,84 g
Glutaraldehyd 25 %	6,25 ml
Aqua dest.	ad 200 ml

Herstellung des Silberreagenzes:

CuSO ₄ · 5 H ₂ O (1,56g/100 ml)	0,25 ml
NaOH 0,175 M (6,9g/l)	10 ml
Ag NO ₃	1,25 g
in Aqua dest.	30 ml
lösen	
Niederschlag mit 25% Ammoniak	6 ml
lösen.	

Herstellung der Reduktionslösung

1 % Citronensäure	3 ml
95 % Äthanol	50 ml
37 % Formaldehyd	0,5 ml
Aqua dest.	ad 500 ml

3.2 Methoden

3.2.1 Blutentnahme

Tauben und Hähne wurden aus der Vena cutanea ulnaris mit 2 ml bzw. 5 ml Spritzen und 0,7 x 32 mm Kanülen geblutet. Mußten die Hähne im Anschluß an einen Versuch getötet werden, so erfolgte die Blutextraktion durch Herzpunktion mit 10 ml Spritzen und 0,9 x 38 mm Kanülen.

Bei Mohrenkopfpapageien und Wellensittichen wurde Blut aus der Vena jugularis mit 1 ml Spritzen und 0,7 x 32 mm Kanülen genommen.

3.2.2 Serumgewinnung

Für die Serumgewinnung wurde das extrahierte Blut 1 Stunde im Brutschrank bei 37°C anschließend 1 Stunde im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt. Danach wurde das geronnene Blut mit einem Plastikstab aufgerührt und bei 2000 x g 15 Minuten zentrifugiert. Der Serumüberstand wurde in PS-Röhrchen der Firma Greiner gegossen und bei -20°C bis zur Verwendung eingefroren.

3.2.3 Serumbehandlung

Um unspezifische Inhibitoren auszuschalten, wurden die Seren 1/2 Stunde im Wasserbad bei 56°C inkubiert bzw. 1 Teil Serum mit 4 Teilen Receptor destroying enzyme (RDE)^R (Wellcome) vermischt und 18 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde das Gemisch 1 Stunde bei 56°C aufbewahrt und zum Verhältnis 1:8 mit 0,85%iger, physiologischer NaCl verdünnt.

3.2.4 Herstellung einer 0,75%igen Hühnererythrozytensuspension

Hühnern wurde aus der Vena cutanea ulnaris 4 ml Blut extrahiert und mit 1 ml einer 3,8%igen Natriumcitratlösung gemischt.

Das Citratblut wurde in Glasröhrchen gegossen und 15 Minuten bei 2000 x g zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Die Resuspension des Erythrozytensediments erfolgte mit 0,85%iger physiologischer NaCl.

Anschließend wurde erneut bei 2000 x g 15 Minuten zentrifugiert. Dieser Waschvorgang wurde 2 mal wiederholt. Die Erythrozyten wurden in einem Volumenverhältnis von 1:10 in physiologischer 0,85%iger NaCl suspendiert (10%iger Hühnererythrozyten Stammlösung). Für die HA und HAH-Reaktion wurde die Erythrozyten-Stammlösung mit physiologischer NaCl zu einer 0,75%igen Suspension verdünnt.

3.2.5 Hämagglutination (HA)

Die HA wurde im Mikrotitersystem durchgeführt.

Als Antigene diente die Amnion- und Allantoisflüssigkeit (AAF) von infizierten, embryonierten Eiern.

Nach Verdünnung der Antigene mit 0,85%iger physiologischer NaCl in log 2-Stufen (0,025 ml) mit Hilfe von Mikrodilutern der Firma Dynatech wurde in jede U-förmige Vertiefung 0,05 ml einer 0,75%igen Suspension aus gewaschenen Hühnererythrozyten getropft, 30 Minuten bei Zimmertemperatur inkubiert und dann abgelesen.

3.2.6 Hämagglutinationshemmung (HAH)

Die HAH wurde im Mikrotitersystem unter Verwendung von 4 hämagglutinierenden Einheiten (4 HE) der Antigene durchgeführt (KALETA et al. 1972). Als Antigene wurde die AAF infizierter, embryonierter Eier verwendet. Nach Verdünnung der Seren mit 0,85%iger physiologischer NaCl in log 2-Stufen und Zugabe des jeweiligen Antigens (4 HE in 0,025 ml) wurden die Platten 30 Minuten bei Zimmertemperatur inkubiert. Danach wurde je Vertiefung 0,05 ml einer 0,75%igen Suspension aus gewaschenen Hühnererythrozyten zugegeben, 30 Minuten bei Zimmertemperatur inkubiert und anschließend abgelesen. Entsprechende serum- und virusfreie Kontrollen wurden mitgeführt.

3.2.7 Zellkulturen

Primäre Hühnerembryofibroblasten (HEF) wurden nach der von MAYR et al. 1974 angegebenen Methode aus 11-tägig embryonierten Eiern hergestellt und in einer Dichte von 3×10^5 Zellen pro ml Wachstumsmedium ausgesät.

3.2.8 Virustitration in HEF

Die Virustitration erfolgte in Flachboden-Gewebekulturplatten der Firma Dynatech. Als Antigene wurde die AAF infizierter embryonierter Eier verwendet.

Nach Abschütten des Wachstumsmediums von dem dichtgewachsenen Zellrasen und nach Verdünnung der Antigene in log 10-Stufen wurde in jede Vertiefung 0,15 ml der jeweiligen Verdünnungsstufe getropft. Virusfreie Zellkontrollen wurden mitgeführt.

Die Mikrotiterplatten wurden 72 Stunden im Brutschrank bei 39°C und 5% CO₂ - Begasung aufbewahrt.

Der Virustiter (KID₅₀ pro ml) wurde nach KÄRBER und SPEARMAN (zit. nach MAYR et al. 1974) bestimmt.

3.2.9 Virusneutralisationstest (VN-Test)

Für den Virusneutralisationstest (VN-Test) wurden Flachboden-gewebekulturplatten der Firma Dynatech verwendet. Die zu untersuchenden Seren wurden in log 2-Stufen in Wachstumsmedium verdünnt (0,05 ml/Vertiefung) und zu jeder Verdünnungsstufe eine konstante Menge (0,05 ml/Vertiefung) virushaltiger AAF hinzugegeben, welche zuvor in Wachstumsmedium auf 100 KID₅₀ eingestellt worden war.

Das Gemisch wurde 15 Minuten im Brutschrank bei 39°C und 5% CO₂-Begasung inkubiert.

Danach wurde in jede Vertiefung 0,05 ml HEF getropft. Entsprechende serum- und virusfreie Kontrollen sowie Zellkontrollen wurden mitgeführt.

Der Neutralisationstiter (ND₅₀) wurde nach der Methode von BEHRENS und KÄRBER (zit. nach MAYR et al. 1977) bestimmt.

3.2.10 Plaquereinigung

Die Plaquereinigung erfolgte nach der von MAYR et al. 1974 angegebenen Methode.

Primäre HEF-Zellkulturen wurden in Plastikpetrischalen für Gewebekulturen 94/16 der Firma Greiner kultiviert. Pro Petrischale wurden 10 ml Zellsuspension mit einer Dichte von 3×10^5 - Zellen pro ml Wachstumsmedium ausgesät.

Nachdem der Zellrasen dicht ausgewachsen war, wurde der Kulturüberstand vorsichtig abgeschüttet und die Zellen mit 5 ml vorgewärmtem Waschmedium gereinigt und anschließend mit 1 ml virushaltiger AAF beschickt. Nach einer Adsorptionszeit von einer Stunde bei 39°C und 5%iger CO₂-Begasung wurde der Überstand entfernt, der Zellrasen gewaschen und mit 10 ml Agaroverlay überschichtet. Nach einer Inkubationszeit von 72 Stunden waren Plaques entstanden, die nach dem Zufallsprinzip mit einer Pasteurpipette vorsichtig ausgestochen und anschließend in primären HEF vermehrt wurden. Der oben beschriebene Vorgang wurde 2 mal wiederholt. Nach Vermehrung eines großen und kleinen Plaques (P_{3g} und P_{3k}) in der Allantoishöhle 9-tägig embryonierter Eier wurden die gewonnene AAF für weitergehende Untersuchungen verwendet.

3.2.11 Virusvermehrung in embryonierten Eiern

Als Antigene wurde die AAF infizierter embryonierter Eier bzw. der Kulturüberstand infizierter HEF verwendet.

0,1 ml virushaltigen Materials wurden 1 : 10 mit physiologischer 0,85%iger NaCl verdünnt. Von diesem Gemisch wurden 0,9 ml entnommen, mit 10 000 I.E. Penicillin und 20 mg Streptomycin versetzt und 1/2 Stunde bei Zimmertemperatur inkubiert.

Anschließend wurden 0,2 ml in die Allantoishöhle 9-tägiger embryonierter Eier inokuliert. Die AAF wurde nach spätestens 5 Tagen geerntet. Falls die Embryonen der inokulierten Eier bis zu diesem Zeitpunkt nicht abgestorben waren, wurden sie durch 2-stündiges Aufbewahren bei -20°C abgetötet. Die gewonnene AAF wurde auf Hämagglutination überprüft ,

3.2.12 Virusvermehrung in Zellen

Die AAF infizierter embryonierter Eier oder der Kulturüberstand infizierter HEF wurden als Antigene verwendet. Nach Abschütten des Wachstumsmediums wurde das Antigen, das zuvor in Erhaltungsmedium 1 : 10 verdünnt worden war, auf den dichtgewachsenen Zellrasen gegeben. Die Röhrchen wurden 48-72 Stunden im Brutschrank bei 39°C bis zur Ausbildung eines cpE's inkubiert. Der Überstand wurde auf seine hämagglutinierende Aktivität untersucht.

3.2.13 Mean Death Time (MDT)

Die Ermittlung der MDT erfolgte nach der in den Methods for examining poultry biologics angegebenen Methode (1971).

Als Antigen wurde mit 0,85%iger NaCl in log 10-Stufen verdünnte, virushaltige AAF verwendet.

In die Allantoishöhle von 9 Tage alten Hühnerembryonen wurde jeweils 0,1 ml der Verdünnungsstufen 10^{-1} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} und 10^{-10} inokuliert. Für jede Verdünnungsstufe wurden 5 Eier verwendet, bei 37°C bebrütet und in Abständen von 8 Stunden geschickt.

Die AAF abgestorbener Eier wurde auf hämagglutinierende Aktivität überprüft.

Bewertet wurden nur solche Eier, die im Zeitraum von 24 Stunden bis 104 Stunden post inokulationem abgestorben waren.

Die Berechnung der MDT erfolgte nach folgender Formel:

(Anzahl der abgestorbenen Eier zur Stunde x) x (x Stunden) +
(Anzahl der abgestorbenen Eier zur Stunde y) x (y Stunden) etc.

abgestorbene Eier insgesamt

3.2.14

Intracerebraler Pathogenitätsindex (ICPI)

Der ICPI wurde nach der in den Methods for examining poultry biologics (1971) angegebenen Methode durchgeführt.

Als Antigen wird die AAF infizierter embryonierter Eier verwendet und mit physiologischer 0,85%iger NaCl zu einer Virusgebrauchsdosis von 10^{-1} verdünnt. Von dieser Virusgebrauchsdosis werden 0,05 ml in Eintagsküken injiziert.

Als Kontrolltiere dienen 2 Eintagsküken, in die 0,05 ml virusfreie AAF intracerebral inokuliert wird.

Die Küken werden über einen Zeitraum von 8 Tagen beobachtet. Täglich wird notiert, wieviel Tiere gestorben, erkrankt oder noch gesund sind. Bei 10 Küken, die für den Versuch eingesetzt werden (Ursprungszahl) und 8 Tagen Versuchsdauer erhält man 80 Werte (Summe der Ursprungszahlen).

Die Zahl der gestorbenen Tiere wird mit dem Faktor 2, die der erkrankten mit dem Faktor 1 und die der gesunden mit dem Faktor 0 multipliziert und die errechneten Produkte addiert (Summe der Gruppennzahlen).

Um den ICPI zu erhalten, wird die Summe der Gruppennzahlen durch die Summe der Ursprungszahlen dividiert.

3.2.15

Intravenöser Pathogenitätsindex (IVPI)

Die Berechnung des IVPI des PMV 14/83 erfolgte nach der in den Methods for examining poultry biologics (1971) beschriebenen Methode.

Verschiedene Eipassagen und unterschiedliche Viruskonzentrationen pro ml AAF wurden in jeweils 10 achtwöchige Hähne intravenös injiziert. Als Kontrolltiere wurden 2 achtwöchige Hähne mitgeführt. Die Tiere wurden über einen Zeitraum von 10 Tagen beobachtet. Die Berechnung des IVPI erfolgte analog der Berechnung des ICPI. Lediglich die Gruppenfaktoren differierten. Während sie beim ICPI von 0 bis 2 reichten, wurde als höchster Gruppenfaktor beim IVPI die Zahl 3 verwendet.

Passagezahl und Virusgehalt sind in den Ergebnissen aufgeführt.

3.2.16 Untersuchung der physikalisch-chemischen Eigenschaften

Die Untersuchung der physikalisch-chemischen Eigenschaften des PMV-Isolates 14/83 sowie fünf weiterer Taubenisolate wurde mit den von MAYR et al. 1974 angegebenen Methoden durchgeführt.

3.2.16.1 Bestimmung der Nukleinsäure

5-Iodo-2'-Deoxyuridine (IDU) wurde in einer Menge von 1 mg/ml Erhaltungsmedium gelöst und bei 4°C aufbewahrt. Zum Gebrauch wurde diese Lösung im Verhältnis 1:10 in Erhaltungsmedium verdünnt (0,1 mg/ml Erhaltungsmedium).

Dichtgewachsene primäre HEF-Zellkulturen wurden mit 0,3 zu untersuchendem Virusmaterial beschickt und nach einer Adsorptionszeit von 1 Stunde mit vorgewärmter PBS gewaschen. Anschließend erfolgte die Zugabe von Erhaltungsmedium, wobei 2 Proben mit IDU versetzt wurden und 2 Proben unbehandelt blieben.

Parallel dazu liefen unbehandelte sowie mit IDU versetzte Zellkulturkontrollen mit.

3.2.16.2 Verhalten gegenüber Lipidlösungsmitteln

Virushaltige AAF wurde im Verhältnis 10:1 mit Chloroform (pro analysi) versetzt und 1 Stunde bei 4°C geschüttelt. Anschließend erfolgte die Aufbewahrung des Materials bei 4°C. Nach 12 Stunden wurde die Suspension bei 2200 x g 45 Minuten zentrifugiert und der virushaltige Überstand in log 10-Verdünnungsstufen auf empfängliche Zellkulturen verimpft.

3.2.16.3 Säurebehandlung

Der virushaltige Kulturüberstand dichtgewachsener primärer HEF-Zellen wurde im Verhältnis 1:10 mit PBS (pH 7,2) bzw. mit einem PBS-Citronensäure-Puffer (pH 3,0) gemischt.

Anschließend wurden die Proben 30 und 60 Minuten im Wasserbad bei 37°C gehalten, in log 10-Stufen verdünnt und auf Zellkulturen verimpft. Die pH-Werte wurden bei jeder Probe einzeln überprüft.

3.2.16.4 Thermostabilität des Hämagglutinins

Virushaltige AAF wurde in 0,1 ml-Portionen abgefüllt und bei 56°C im Wasserbad aufbewahrt. Nach 15, 30, 45, 60 und 90 Minuten wurde jeweils 1 Probe entnommen und sofort bei -20°C eingefroren. Nach dem Auftauen wurden die einzelnen Proben im HA untersucht.

3.2.16.5 Thermostabilität der Infektiosität

Die Durchführung erfolgte analog der Überprüfung der Thermostabilität des HN-Proteins, jedoch wurden die Proben in log 10-Stufen verdünnt und auf empfängliche Zellkulturen verimpft.

3.2.17 Elektronenmikroskopische Aufnahmen des PMV 14/83, 4. Eipassage

Die bei 2200 x g abzentrifugierte AAF wurde mit Phosphorwolframsäure, 2%, pH 7,35 1 Minute lang negativ kontrastiert. Die Anfertigung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen erfolgte mit dem EM 10 C - Elektronenmikroskop der Firma Zeiss und einem Graphic Arts Film der Firma Du Pont. Entwickelt wurden die Aufnahmen mit Kodak D 19 - Entwickler.

3.2.18 Virusreinigung

Die Virusreinigung und Proteinextraktion erfolgte nach der von HÖNIG (1983) angegebenen Methode.

Als Ausgangsmaterial diente die AAF von embryonierten, mit PMV 14/83 bzw. NDV infizierten Eiern.

Zunächst wurde die AAF, die in einer Menge von 220 ml zur Verfügung stand, bei 2000 x g 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde im Ti 60-Rotor der Beckman-Zentrifuge bei 170 000 x g, 40 Minuten und 4°C konzentriert. Die gewonnenen Pellets wurden in gerade soviel PBS aufgenommen, daß sie sich gut lösten und mit Douncer L (L = light) zum Zerkleinern von Aggregaten etwa 20 mal homogenisiert und über Nacht bei 4°C aufbewahrt.

Anschließend wurde erneut bei 2000 x g 5 Minuten zentrifugiert. Um Verunreinigungen durch kleine und leichte Proteine aus der Virussuspension abzutrennen, wurden im SW 50.1 Röhrchen 0,5 ml 60% Sacharoselösung in PBS vorgelegt und darüber 1 ml 25% Sacharoselösung in PBS geschichtet.

Auf die 25% Saccharoselösung wurde die Virussuspension gegeben und das Röhrchen mit PBS aufgefüllt.

Anschließend wurde im SW 50.1 - Rotor der Firma Beckmann bei 180 000 x g 45 Minuten und 4°C abzentrifugiert. Die zwischen der 25% und 60% Saccharoseschicht entstandene Virusbande wurde vorsichtig abgenommen. Um Virushüllen und Viren anderer Dichte von der Virussuspension zu trennen, wurde ein linearer Dichtegradient aus Saccharose (25 - 60%ige Saccharose in PBS) hergestellt.

Auf den in einem TST 41 - Röhrchen der Firma Kontron vorgelegten Gradienten wurde die Virusbande aufgetragen und mit PBS aufgefüllt. Die Zentrifugationszeit wurde nach Mc EWEN (1967) berechnet.

Hierbei gehen $r_{\min}$ und $r_{\max}$ des Zentrifugenröhrchens, die Partikeldichte und die Temperatur bei der Zentrifugation ein.

Anschließend wurde die Virusbande zwischen der 25% und 60% Saccharose abgenommen, mit PBS 1:4 verdünnt und bei 180 000 x g 30 Minuten und 4°C im SW 50.1 - Rotor zentrifugiert.

Das ca. 0,5 cm große Pellet wurde in 200 μ l STE x 1 aufgenommen.

3.2.19 Proteinextraktion

Zur Proteinextraktion wurde die in STE x 1 aufgenommene Virussuspension mit dem Detergenz Natriumdodecylsulfat (SDS) versetzt, das in einer Endkonzentration von 2 % das Virus gut "aufbricht". Dabei werden die Proteine von den übrigen Bestandteilen abgetrennt und die Nukleoproteine zerlegt. Die Inkubation erfolgte über Nacht bei 37°C im Brutschrank.

In der anschließenden "Phenolisierung" werden die Proteine von den Nukleinsäuren getrennt. Dazu wird eine STE-gesättigte Phenollösung folgendermaßen hergestellt:

Das Phenol wird im Wasserbad erwärmt, eine STE x 1-Lösung unter das Phenol gezogen, bis es geschmolzen ist und anschließend 6 N NaOH dazugegeben, bis ein pH von 7.5 erreicht ist. Dieses STE-gesättigte Phenol wird nun der Virussuspension zugegeben, 20 Minuten mit der Hand geschüttelt und 5 Minuten bei 2000 x g und 20°C abzentrifugiert. Es erfolgt eine klare

Trennung zwischen der Phenolphase, in der die Proteine gelöst sind und der darüberliegenden wäßrigen Phase, in der sich die Nukleinsäuren befinden. Mit einer Eppendorfpipette wird die wäßrige Phase vorsichtig abgenommen und die Phenolphase ein zweites Mal mit STE-Lösung ausgeschüttelt. Dann wird erneut SDS bis zu einer Konzentration von 1% dazugegeben.

Die Proteine werden durch Zugabe eines 2,5-fachen Volumens an Aceton, das 0,1 M Eisessig enthält, bei 4°C ausgefällt.

3.2.20 SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese

Zur Auftrennung der Proteine wurde ein diskontinuierliches SDS-Polyacrylamidgel (LAEMMLI 1970) verwendet.

3.2.20.1 Aufbau der Elektrophorese-Apparatur

Die Acrylamid/Methylenbisacrylamid-Lösung wurde hergestellt, indem man Acrylamid und Methylenbisacrylamid in H₂O unter Beisein von Ionenaustauscher Amberlite, Korngröße 20-30, löste und dann abzentrifugierte. Dabei wurden störende Komponenten in den Lösungen an den Ionenaustauscher gebunden. Waren die beiden Platten, zwischen die das Gel gegossen wurde, mit Agarose abgedichtet, so wurde zunächst das Trenngel gegossen. Zu diesem Zweck wurden die ersten vier Komponenten des Trenngels in einer Saugflasche zusammenpipettiert, dann 2-3 mal entgast und in einen Erlenmeyerkolben überführt.

Nun wurden TEMED und APS als Radikale zur Vernetzung hinzugefügt. Mit dieser Lösung wurden 2/3 des Gelvolumens gefüllt und dann soviel H₂O mit der Pasteurpipette auf das Trenngel gegeben, daß dieses einen glatten Rand bildete.

Nach Vernetzung und Erstarrung des Polyacrylamidgels wurde das H₂O, welches zugefügt bzw. bei der Polymerisation freigesetzt worden war, abgegossen und mit Filterpapier abgesaugt.

In der gleichen Weise wurde das Sammelgel gegossen, in welches abschließend der Kamm gesteckt wurde.

Nachdem die Elektrophorese-Apparatur aufgebaut und abgedichtet war, wurde der Elektrophoresepuffer in die Kammern gegossen. Das Gel "lief" bei etwa 5mA "vor".

3.2.20.2 Aufbereitung der Probe

Es wurde eine entsprechende Menge Protein mit dem gleichen Volumen an Probenpuffer versetzt.

Als Markerlösungen dienten die Sendai-Gesamtproteine.

Die Proben und Markerlösungen wurden 5 Minuten bei 100°C gekocht und anschließend in die Taschen des Gelkammes gefüllt.

3.2.20.3 Färben des Gels mit Coomassieblau

Die Banden des Gels wurden mit Coomassieblau 1/2 bis 1 Stunde fixiert und gefärbt. Dann wurde mit der unter 3.1.9.5 angegebenen Entfärbelösung ungefähr einen Tag entfärbt.

3.2.20.4 Silberfärbung des Gels

Nach Färben des Gels mit Coomassieblau und anschließender Entfärbung wurde das Gel mit Aqua dest. gewaschen und 1 Stunde bei 60°C in 10%igem Äthanol und nach erneutem Waschen mit Aqua dest. 20 Minuten bei 60°C in einer Glutaraldehydlösung aufbewahrt.

Anschließend erfolgte ein 10 x 15-minütiges Waschen mit Aqua dest. bei 60°C im offenen System und eine Aufbewahrung des Gels in Aqua dest. für 12 Stunden.

Danach wurde 20 Minuten bei 37°C mit Silberreagenz gefärbt und anschließend das Gel mit 10%igem Äthanol gewaschen.

Die Reduktion erfolgte mit der unter 3.1.9.6 angegebenen Reduktionslösung bei 37°C.

3.3 Versuchsplanung

3.3.1 Pathogenitätsversuche

Für die Pathogenitätsversuche wurde die 4. Eipassage des PMV 14/83 verwendet.

3.3.1.1 Achtwöchige Hähne

Jeweils 3 achtwöchige Hähne wurden mit 10^{10} EID₅₀ bzw. 10^4 EID₅₀ intramuskulär (i.m.) und 2 Hähne mit 10^{10} EID₅₀ intranasal (i.n.) infiziert.

3.3.1.2 Wellensittiche

4 mit Newcadin^R (0,25 ml i.m.) gegen ND geimpfte und 5 ungeimpfte Wellensittiche wurden mit 10^{10} EID₅₀ i.m. infiziert.

3.3.1.3 Mohrenkopfpapageien

5 mit Newcadin^R (0,5 ml i.m.) gegen ND geimpfte und 5 ungeimpfte Mohrenkopfpapageien wurden mit 10^{10} EID₅₀ i.m. infiziert.

Alle Tiere wurden über einen Zeitraum von 3 Wochen beobachtet und anschließend geblutet. Die gewonnenen Seren wurden im HAH auf Antikörpertiter gegen PMV 14/83 und NDV-Montana überprüft.

3.3.2 Infektionstest an gesunden Tauben

10 Tauben wurden mit 10^7 KID₅₀ der 2. Eipassage des PMV 14/83 i.m. infiziert und über 5 Wochen beobachtet.

2 Wochen p.i. wurden 2 Tauben als Kontakttiere zu den infizierten Tauben gesetzt. In Abständen von jeweils 3 Tagen wurden ab dem 5. Tag p.i. bis zum 37. Tag p.i. Kloakaltupfer von den infizierten und Kontakttauben genommen, um die Dauer der Virusausscheidung zu ermitteln.

Der aufbereitete Kot wurde in 9- bis 11-tägig embryonierte Hühnereier inokuliert und die AAF nach spätestens 5 Tagen auf Hämagglutination untersucht.

Nach 9, 16, 23, 30 und 37 Tagen p.i. wurde Blut extrahiert und die Seren im HAH auf Antikörper gegen das PMV 14/83 überprüft.

3.3.3 Impfprogramme

Es wurden 3 verschiedene Impfprogramme mit jeweils 10 Tauben und ein Impfprogramm mit 20 Tauben durchgeführt.

1. Impfung mit La Sota-Lebendimpfstoff (5-fache Hühnerdosis, intranasal (i.n.)).

1000 La Sota-Impfstoffdosen wurden mit physiologischer NaCl in der Weise verdünnt, daß 3 Tropfen des Gemisches die 5-fache Hühnerdosis enthielten. Den Tauben wurde 1 Tropfen ins linke Auge und 2 Tropfen in die Nasenöffnungen getropft.

4 und 8 Wochen p.vacc. wurden jeweils 5 der 10 vakzinierten Tauben mit 10^7 KID₅₀ der 2. Eipassage des PMV 14/83 (Belastungsinfektions-Dosis) i.m. infiziert.

In den folgenden 3 Wochen wurde auf das Auftreten von klinischen Krankheitsanzeichen geachtet.

2. Impfung mit Lomavac^R (1 ml i.m.) und Revakzination mit Newcavac^R (0,5 ml s.c.) nach 6 Wochen.

Die Belastungsinfektion wurde 4 bzw. 8 Wochen nach der letzten Impfung durchgeführt.

3. Impfung mit Newcavac^R (0,5 ml s.c.).

Die geimpften Tiere wurden 4 oder 8 Wochen sowie 4 bzw. 8 Monate p.vacc. mit der Belastungsinfektions-Dosis i.m. infiziert.

4. Impfung mit Newcavac^R (0,5 ml s.c.) und Revakzination mit Newcavac^R (0,5 ml s.c.) nach 3 Monaten.

Die Belastungsinfektion fand 4 bzw. 8 Wochen nach der letzten Impfung statt.

4. Ergebnisse

4.1 Untersuchung der physikalisch-chemischen Eigenschaften der 2. Eipassage des PMV 14/83

Das Isolat zeigte sich chloroformlabil und IDU-resistent. Die 2. Eipassage fiel im HA-Titer nach 15-minütiger Einwirkungszeit von 56°C um 1 log 2-Stufe und blieb nach weiterer Erhitzungsdauer konstant. Sie war somit thermostabiler als NDV-Montana, welches bereits nach 15 Minuten keine hämagglutinierende Aktivität mehr aufwies (Tab. 1).

Des weiteren erwies sich PMV 14/83 bei pH 3 stabiler als NDV-Montana (Tab. 2).

	0'	15'	30'	45'	90'	
PMV	3	2	2	2	2	HA-Aktivität
14/83						
2. Ei-	6	5	4	4	3	Infektiosität
passage						KID ₅₀ / ml
NDV-	7	0	0	0	0	HA-Aktivität
Mon-						
tana	8	3	3	3	3	Infektiosität
						KID ₅₀ / ml

Tab.1: HA-Aktivität (log 2) und Infektiosität (log 10) für HEF nach 0- bis 90-minütiger Einwirkungszeit von 56°C

	0'	30'	60'	
PMV 14/83	10	10	10	pH 7
2. Ei-passage	10	10	6,5	pH 3
NDV-Montana	10	9,5	9,5	pH 7
	10	0	0	pH 3

Tab. 2: Infektiosität (KID_{50}/ml) in log 10 für HEF nach 0- bis 60-minütiger Einwirkungszeit von pH 3 und pH 7.

4.2 Kreuz-HAH mit der 2. und 5. Eipassage des PMV 14/83 und einigen aPMV

Im Kreuz-HAH wird deutlich, daß PMV 14/83 mit NDV-Montana verwandt ist, wobei die 5. Eipassage des PMV 14/83 eine größere Verwandtschaft zeigt als die 2. Eipassage (Tab. 3). Eine, wenn auch geringere Beziehung, besteht außerdem zu den Vertretern der aPMV-Serogruppe 3 (Tab. 3).

Antiseren

	NDV- Monta- na	ck/Cal/ Yuc/56	ty/ Wis/68	Parakeet/ Weth/449/75	dk/ HK/199/77	dove/ Tn/4/75	dom.dk/ New York/22-78	PMV 14/83 2.Elpass.	PMV 14/83 5.Elpass.
NDV - Montana	256 *	/ **	16	16	/	/	/	32	64
Yucaipa	/	128	/	/	/	/	/	/	/
ty/Wis/68	16	/	128	64	/	/	/	16	/
pkt/Neths/ 449	16	/	128	256	/	/	/	16	/
dk/HK/ D 3/75	/	/	/	/	128	/	/	/	/
dk/HK/ 199/77	/	/	/	/	/	512	/	/	/
dove/Tn/ 4/75	16	/	/	/	/	128	/	/	/
dom.dk./ N.Y./22/78	/	/	/	/	/	/	32	/	/
PMV 14/83 2.Elpass.	32	/	/	/	/	/	/	256	128
PMV 14/83 5.Elpass.	64	/	/	/	/	/	/	128	256

Tab. 3: Kreuz-HAH

* Reziproker HAH-Titer

** Reziproker HAH-Titer $\times 8$

4.3 Titration monospezifischer PMV 14/83 - und NDV 135 - Antiseren gegen die 2. und 5. Ei-passage des PMV 14/83 und NDV-Montana

Die Antiseren der mesogenen, aus Tauben isolierten NDV-Stämme 135 B und C (VINDEVOGEL 1983) und 2 PMV 14/83 - Antiseren aus einer Taube und einem Huhn wurden im HAH gegen die 2. und 5. Ei-passage des PMV 14/83 und NDV-Montana titriert (Tab. 4). Während die höchste HA-Aktivität bei Titration der Antiseren gegen die 2. Eipassage des PMV 14/83 erreicht wurde, lag sie bei Titration gegen die 5. Eipassage bzw. gegen NDV-Montana um 1 log 2-Stufe bzw. 2-log 2-Stufen niedriger (Tab. 4).

<u>Antiseren</u> \ <u>Virus</u>	PMV 14/83 2.Eipass.	PMV 14/83 5.Eipass.	NDV-Mon- tana
Vindevogel B Anti 135	2^6	2^5	2^4
Vindevogel C Anti 135	2^6	2^5	2^4
PMV 14/83 - Antiserum aus einer Taube	2^7	2^6	2^5
PMV 14/83 - Antiserum aus <u>einem Huhn</u>	2^7	2^6	2^4

Tab. 4 HAH-AK-Titer einiger Seren gegen das PMV 14/83, 2. und 5. Eipassage sowie gegen das NDV-Montana.

4.4

VN - Test

Die Neutralisationstiter (ND_{50}) sind in Tab. 5 zusammengefaßt. Während bei Titration von PMV 14/83 - Antiserum für P_{3g} eine ND_{50} von $10^{-3,16}$ erreicht wurde, lag sie für NDV-Montana bei $10^{-1,96}$.

Die Titration von monospezifischen NDV-Montana-Antiserum ergab für P_{3g} eine ND_{50} von $10^{-0,75}$ und für NDV-Montana eine ND_{50} von $10^{-1,96}$.

Tab. 5:

Antigene Antiseren	P_{3g}	NDV-Montana
PMV 14/83	3,16	1,96
NDV-Montana	0,75	1,96

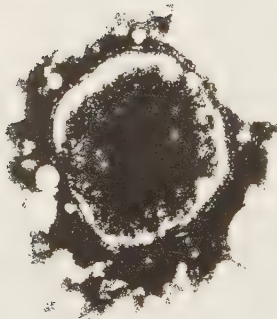
Neutralisationstiter (ND_{50} , in $-\log 10$) nach der von BEHRENS und KÄRBER (zit. nach MAYR et al. 1977) angegebenen Berechnung.

4.5

Elektronenmikroskopische Aufnahmen

Abb. 1 und 2 zeigen elektronenmikroskopische Aufnahmen des PMV 14/83, 4. Eipassage im Verhältnis zu einem Vergleichsmaßstab.

Deutlich erkennbar sind die Hüllantigene (Spikes) und die Pleomorphie des Virus.



100 nm



100 nm

Abb. 1: PMV 14/83
4. Eipassage

Abb. 2: PMV 14/83
4. Eipassage

Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden von Herrn Dr. H. Gerbermann vom Landesuntersuchungsamt in Oberschleißheim angefertigt.

4.6 Vergleich der Molekulargewichte der Proteine
von NDV-Montana, PMV 14/83, 3. Eipassage und
Sendai-Virus nach Auftrennung in der SDS-Poly-
acrylamidgelelektrophorese

Abb. 4 zeigt die als Banden sichtbaren Proteine von NDV-Montana, PMV 14/83, 3. Eipassage und von dem als Marker verwendeten Sendai-Virus.

Die Molekulargewichte der einzelnen Proteine von PMV 14/83 und von NDV-Montana wurden anhand der Eichkurve mit den bekannten Proteinen des Sendai-Virus vergleichend ermittelt.

Die Werte sind in Abb. 4 zusammengefaßt.

Für NDV-Montana wurden 4 verschiedene Banden und somit 4 verschiedene Proteine mit folgenden Molekulargewichten (in Dalton (D)) sichtbar.

76000, 56000, 51000 und 44000.

PMV 14/83 wies 5 Banden mit folgenden Molekulargewichten auf:

77000, 69000, 57000, 53000 und 44000.

Die Molekulargewichte der Sendai-Gesamtproteine sind in Abb. 4 zusammengefaßt.

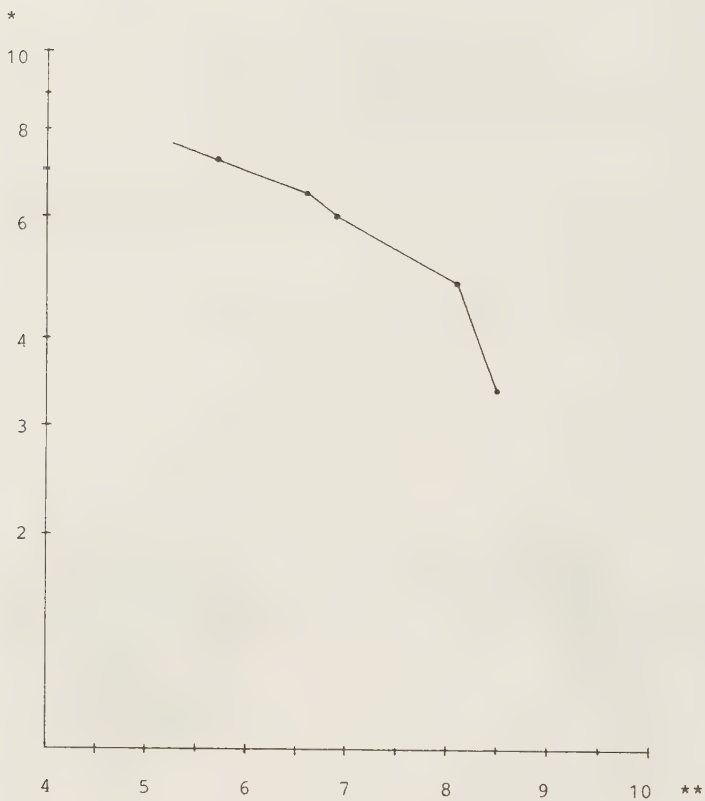


Abb. 3: Eichkurve der Sendai-Gesamtproteine

* Molekulargewicht (in 10^4 D)

** Laufstrecke (in cm)

A B C



Abb. 4: Vergleich der Molekulargewichte (in D)
der in der Polyacrylamidgelelektrophorese
aufgetrennten Proteine von NDV-Montana,
PMV 14/83, 3. Eipassage und Sendai-Virus

A	B	C
NDV-Montana	PMV 14/83	Sendai-Gesamtproteine
— 76 000	— 77 000	— 72 000 (HN)
— 56 000	— 69 000	— 65 000 (F ₀)
— 51 000	— 57 000	— 60 000 (N ^o P)
— 44 000	— 53 000	— 48 000 (F ₁)
	— 44 000	— 34 000 (M)

4.7 MDT

Die MDT der 2. Eipassage des PMV 14/83 betrug 86 Stunden, die der 4. 94 Stunden.

P_{3g} ließ die Embryonen nach durchschnittlich 104 Stunden absterben.

P_{3k} verursachte während einer verlängerten Beobachtungszeit von 128 Stunden keine Embryomortalität.

4.8 ICPI

Die 2., 5. und 18. Eipassage des PMV 14/83 sowie P_{3g} und P_{3k} wurden im ICPI-Test miteinander verglichen.

Die Ergebnisse sind in Abb. 5 veranschaulicht.

Während für die 2. Eipassage ein ICPI von 1,3 errechnet wurde, betrug der der 5. und 18. Eipassage sowie des P_{3g} 1,4.

P_{3k} erreichte einen Index von 1,05.

4.9 IVPI

Während die 5. Eipassage und P_{3g} einen IVPI von 0,0 aufwiesen, wurde für die 2. Eipassage ein Index von 0,3 ermittelt (Abb. 6). 2 von 10 mit der 2. Eipassage infizierten Hähne erkrankten am 4. Tag p.i. unter ZNS-Störungen, Inkoordination der Bewegungen, Seitenlage und Polyurie und 2 weitere am 5. Tag p.i. unter einseitiger Lähmung der Ständer und Polyurie.

Am 8. bzw. 9. Tag p.i. war eine klinische Besserung bzw. Ausheilung festzustellen.

Pathologisch-anatomisch fielen bei den erkrankten und 3 Wochen p.i. getöteten Tieren eine Schwellung von Leber, Nieren und Milz auf.

Die bakteriologischen Untersuchungen ergaben verschiedene Enterobacter- und E.coli-Keime.

Abb. 5: ICPI-Werte der 2., 5. und 18. Eipassage des PMV 14/83 sowie des P_{3k} und P_{3g}

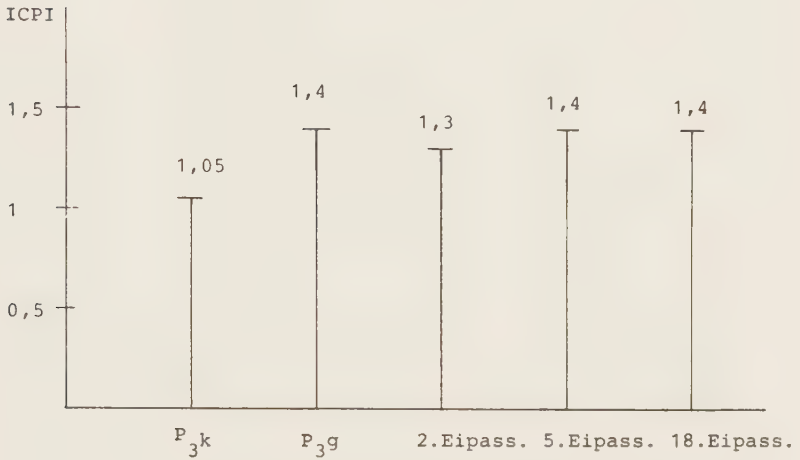
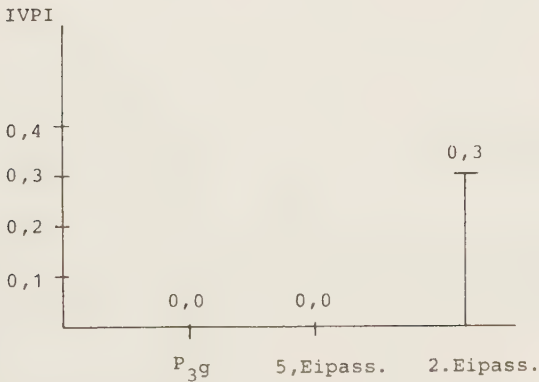


Abb. 6: IVPI-Werte der 2. und 5. Eipassage des PMV 14/83 sowie des P_{3g}



Eipass.	Virusdosis	Hahn-Nr.	PMV	ND
2	10^7	34	7	5
		20	7	6
	10^5	36	7	5
		22	7	6
5	10^6	21	7	4
		31	6	5
	10^4	32	6	4
		42	7	5
Kontaktkontroll - tiere		76	5	3
		77	6	3

Tab. 6:

Infektionsdosen und HAH-Titer (log 2)
bei intravenös mit der 2. bzw. 5. Ei-
passage des PMV 14/83 infizierten Häh-
nen 3 Wochen p.i.

In Tab. 6 sind die Infektionsdosen und HAH-Titer (log 2) bei den IVPI-Hähnen 3 Wochen p.i. angegeben.

4.10 Infektionstest an gesunden Tauben

10 Tauben wurden mit 10^7 KID₅₀ der 2. Eipassage des PMV 14/83 i.m. infiziert und über 35 Tage beobachtet.

Die ersten Krankheitsanzeichen traten 5 Tage p.i. auf und bestanden in Polyurie und einseitiger Lähmung der Ständer.

Vom 6. Tag p.i. bis zum Versuchsende nach 35 Tagen waren beidseitige Flügellähmungen sowie Lidödeme zu beobachten und ab dem 18. Tag p.i. ZNS-Störungen, die sich in Inkoordination, Tortikollis und Tremor äußerten.

7 von 10 Tieren zeigten im Verlauf von 5 Wochen klinische Krankheitsanzeichen und 3 Tauben starben bis zum 22. Tag p.i.

In Tab. 7 wurde analog der Berechnung des ICPI ein Index für die infizierten Tauben berechnet, der 1,1 beträgt.

Pathologisch-anatomisch fielen bei den erkrankten Tauben eine Blutfülle aller parenchymatösen Organe sowie eine hochgradige Schwellung von Nieren, Milz, Pankreas und Leber auf. Außerdem bestand eine mittel- bis hochgradig ausgeprägte Leberdegeneration.

Bakteriologisch wurden Enterobacter- und E.coli Keime ermittelt.

Histologisch konnten nekrotische Nierentubuliabschnitte festgestellt werden sowie Umbauvorgänge in den Zellen von Milz und Nieren, die sich in Karyorhexis und -lysis äußerten.

Darüberhinaus waren intrazytoplasmatische Einschlusskörperchen in beiden Organen vorhanden.

Bei den Tieren mit ZNS-Störungen wurden perivaskuläre Infiltrationen sowie Encephalitisherde im Gehirn beobachtet.

Der Verlauf der HAH-AK ist in Abb. 7 dargestellt.

7 Tage p.i. war ein mittlerer HAH-AK-Titer von 2,8 gegen PMV 14/83 und von 0,8 gegen NDV-Montana vorhanden. Die höchsten Werte gegen PMV 14/83 wurden 3 Wochen p.i. mit 3,7 erreicht.

Zu dieser Zeit betrug der mittlere HAH-AK-Titer gegen NDV-Montana 1,6.

Die Dauer der Virusausscheidung mit dem Kot ist in Abb. 8 aufgezeigt. Während sie bei der Taube Nr. 87 nur am 5. Tag p.i. nachgewiesen werden konnte, hielt sie bei den Tauben Nr. 88, 351 und 353 bis zum 7. Tag p.i. an. Die übrigen Tiere schieden das Virus bis zum 10., 18. oder 21. Tag p.i. mit dem Kot aus.

Lediglich bei der Taube Nr. 343 konnte das Virus auch nach 35 Tagen noch nachgewiesen werden.

Über die Virusausscheidung vor dem 5. Tag p.i. kann keine Aussage getroffen werden, da die Kloakaltupferproben erst ab dem 5. Tag p.i. genommen wurden.

Tage ..	5	6	7	8	10	16	18	22	35	Ur- sprungs- zahl	Grup- pen- faktor	Grup- pen- zahl
Tod	1	1	1	1	2	2	2	3	3	71	2	142
Klinische Symptome	4	6	7	7	6	6	6	7	6	191	1	191
ohne Symptome	5	3	2	2	2	2	1	1	1	48	0	0
Gesamt										310		333

Infektionsindex = 1,1

Tab. 7: Berechnung des Infektionsindexes für künstlich
mit der 2. Eipassage des PMV 14/83 infizierte
Tauben

HAH-Ak-Titer
2ⁿ

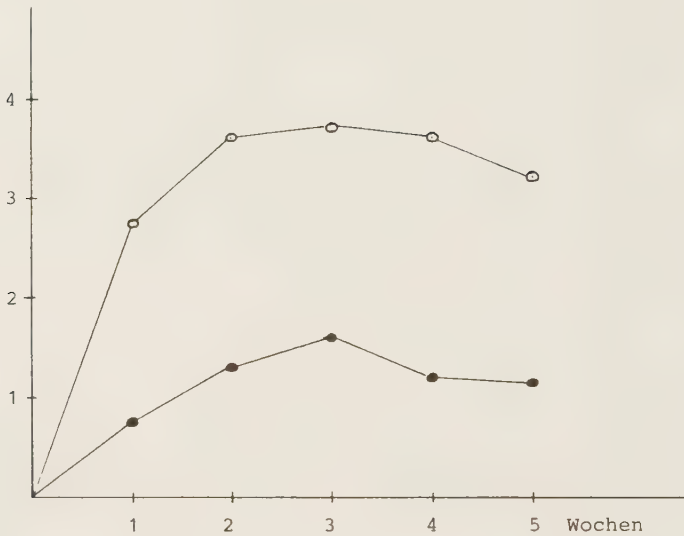


Abb. 7 Verlauf der HAH-Ak 1 bis 5 Wochen nach Beginn des Infektionstestes bei Tauben gegen PMV 14/83 (○) und NDV-Montana (●)

HAH - Titer zu Abb. 7:

Wochen nach der Infektion		1	2	3	4	5	
		n	9	8	8	7	7
○ PMV 14/83	$\bar{x}$	2,8	3,6	3,7	3,6	3,4	
	s	0,4	0,9	1,1	1,4	1,1	
● NDV-Montana	$\bar{x}$	0,8	1,3	1,6	1,2	1,2	
	s	0,9	0,7	1	0,9	0,9	



Abb. 8: Dauer der Virusausscheidung bei Tauben nach künstlicher Infektion mit der 2. Eipassage des PMV 14/83, + = gestorben

4.11

Pathogenitätstest

8 Hähne, 10 Mohrenkopfpapageien (MK) und 10 Wellensittiche (WS) wurden mit der 4. Eipassage des PMV 14/83 i.m. infiziert. Während die Hähne ungeimpft waren, waren 5 von 10 MK und 4 von 10 WS 3 Wochen vor Versuchsbeginn mit 0,5 ml bzw. 0,25 ml Newcadin^R i.m. vakziniert worden.

Alle infizierten und nach 3 Wochen entbluteten Tiere blieben während der Behandlungszeit klinisch unauffällig.

Pathologisch-anatomische Veränderungen konnten nicht festgestellt werden.

Bakteriologisch wurden verschiedene Enterobacter-Keime ermittelt.

Die HAH-Ak-Titer sind in Tab. 8 zusammengefaßt. Gegen PMV 14/83 lagen die Titer durchweg höher als gegen NDV-Montana.

Die WS hatten weder zu Beginn noch 3 Wochen p.i. HAH-Ak gebildet.

Bei den ungeimpften MK waren zu Beginn des Pathogenitätstestes keine HAH-Ak festzustellen. Nach 3 Wochen waren die Ak gegen PMV um 1 log 2-Stufe höher als gegen NDV-Montana.

Die mit Newcadin^R geimpften MK hatten zu diesem Zeitpunkt durchweg höhere Ak gegen NDV als gegen PMV. 3 Wochen p.i. waren die HAH-Titer gegen beide Virusantigene gleich (Tab. 9).

Infektions- dosis	Infektions- weg	Hahn Nr.	PMV	ND
10^4 EID ₅₀	i.m.	112	7	6
		118	9	6
		119	8	6
10^{10} EID ₅₀	i.m.	113	9	6
		117	9	6
		120	7	4
10^{10} EID ₅₀	intra- nasal (i.n.)	111	6	4
		116	7	6
Kontaktkontroll- tiere		114	7	5
		115	7	5

Tab. 8:

HAH-Ak-Titer (log 2) bei den 8-wöchigen Hähnen
3 Wochen nach Beginn des Pathogenitätstestes
mit der 4. Eipassage des PMV 14/83

Mohrenkopfpapagei Nr.	HAH-Titer 1	HAH-Titer 2
--------------------------	-------------	-------------

60252 °	-	3/2
58022 °	-	2/1
58031 °	-	3/2
60231 °	-	2/-
60203 °	-	3/2

60063 m.	1*/2**	2/2
58034 m.	2 /3	3/3
60061 m.	3 /3	3/3
58023 m.	2 /3	3/3
60127 m.	3 /4	4/4

Tab. 9:

HAH-Ak-Titer (log 2) von ungeimpften (°) und geimpften (m.) Mohrenkopfpapageien zu Beginn der Infektion (1) und 3 Wochen p.i. (2).

* HAH-AK-Titer gegen PMV 14/83

** HAH-AK-Titer gegen NDV-Montana

4.12 Überprüfung weiterer PMV-Taubenisolate

4.12.1 Untersuchung der physikalisch-chemischen Eigenschaften

Ein Vergleich der physikalisch-chemischen Eigenschaften verschiedener PMV-Taubenisolate ergab, daß sie sich trotz Zugabe des DNS-Inhibitors IDU in HEF vermehrten, während Chloroform die Virusreplikation verhinderte.

Die Thermostabilität des Hämagglutinins und der Infektiosität für HEF war bei den einzelnen PMV unterschiedlich ausgeprägt (Tab. 10). 729/1 und 146/1 wiesen auch nach 90-minütiger Einwirkungszeit von 56°C keine Veränderung der hämagglutinierenden Aktivität auf, während sie bei 440/1 bereits nach 45 Minuten nicht mehr vorhanden war (Tab. 10).

Bei 116/1 sank sie nach 15 Minuten um 3 log 2-Stufen, bei 76/1 nach 30 Minuten um 1 log 2-Stufe und bei 440/1 nach 30 Minuten um 2 log 2-Stufen.

In Tab. 11 ist die Infektiosität für HEF von 5 verschiedenen PMV nach 0- bis 60-minütiger Einwirkungsdauer von pH 3 und pH 7 aufgezeigt. Während sie für PMV 116/1 und 440/1 bei pH 7 konstant blieb, verringerte sie sich bei PMV 729/1 nach 30 Minuten um $10^{0,5}$ KID₅₀/ml und bei 146/1 nach 60 Minuten um $10^{3,5}$ KID₅₀/ml.

Bei pH 3 zeigten alle untersuchten PMV nach spätestens 30 Minuten eine geringere Infektiosität (Tab. 11).

	0'	15'	30'	45'	90'	
76/1	4	4	3	3	3	HA
	6,5	5,5	4,5	3,5	2,5	Infektiosität
146/1	2	2	2	2	2	HA
	6,5	4	4	4	4	Infektiosität
116/1	7	4	4	4	4	HA
	5	3,5	3	2	1	Infektiosität
440/1	4	4	2	-	-	HA
	10	10	10	9,5	7	Infektiosität
729/1	2	2	2	2	2	HA
	10	10	10	10	9,5	Infektiosität

Tab. 10:

Hämagglutinierende Aktivität (log 2) und Infektiosität (KID₅₀/ml; log 10) für HEF von 5 verschiedenen PMV-Taubenisolaten nach 0 bis 90-minütiger Einwirkungszeit von 56°C

	0'	30'	60'	
146/1	9	9	6,5	pH 7
	9	9	0	pH 3
116/1	10	10	10	pH 7
	10	0	0	pH 3
440/1	10	10	10	pH 7
	10	0	0	pH 3
729/1	10	9,5	9,5	pH 7
	10	9,5	4	pH 3

Tab. 11: Infektiosität (KID_{50}/ml) in log 10 von 4 verschiedenen PMV-Taubenisolaten nach 0- bis 60-minütiger Einwirkungszeit von pH 3 und pH 7

4.12.2 Vergleich der ICPI

Die ICPI der verschiedenen PMV liegen zwischen 0,5 und 1,7 (Abb. 9). Da PMV 146/1 mit einem ICPI von 0,5 entscheidend von den übrigen PMV abwich, lag die Vermutung nahe, daß es sich bei diesem Isolat um keinen Feldstamm, sondern möglicherweise um einen ND-Impfstamm handelte.

Die Titration von monospezifischem NDV-Montana- und PMV 14/83 - Antiserum gegen die im Intracerebralen Pathogenitätstest verwendeten Taubenisolate und NDV-Montana ergab die in Tab. 12 dargestellten Werte.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die HAH-Ak-Titer bei Verwendung von monospezifischem PMV 14/83-Antiserum deutlich höher liegen als bei Verwendung von monospezifischem NDV-Antiserum.

4.12.3 IVPI

3 PMV-Isolate wurden im Intravenösen Pathogenitätstest miteinander verglichen.

Während für PMV 146/1 ein IVPI von 0,0 errechnet wurde, erreichte PMV 116/1 einen Index von 0,2 (Abb. 10).

Ab dem 6. Tag p.i. waren bei 2 Hähnen klinische Krankheitsanzeichen festzustellen, die sich in ZNS-Störungen, Gelenksschwellungen und Polyurie äußerten. 1 erkranktes Tier starb am 8. Tag p.i.

5 von 10 mit dem PMV 440/1 infizierten Hähne zeigten ab dem 6. Tag p.i. ZNS-Störungen, Seitenlage, Polyurie und/oder Gelenksschwellungen.

Bis zum 10. Tag p.i. war keine Rekonvaleszenz zu beobachten. Für PMV 440/1 wurde demzufolge ein IVPI von 0,4 errechnet (Abb. 10).

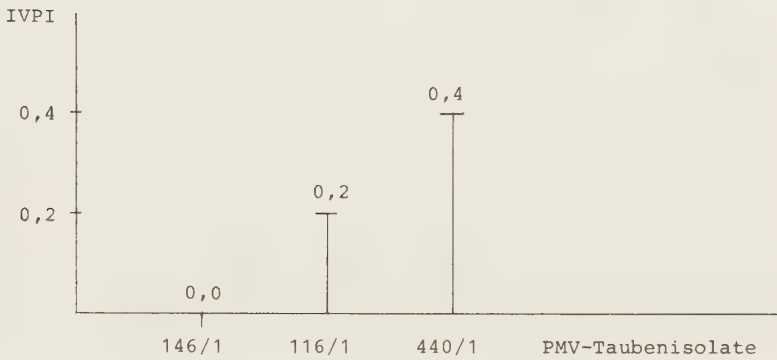
Abb. 9 ICPI-Werte verschiedener PMV-Taubenisolate



Virus- stämme Seren	14/83 2. Eip.	14/83 5. Eip.	146/1	76/1	478/1	116/1	440/1	746/1	463/1	120/1	728/1	729/1	NDV- Mon- tana
PMV 14/83 2. Eip.	128	64	32	64	32	128	256	64	64	64	128	128	32
NDV- Mon- tana	32	32	16	32	16	64	32	16	32	32	64	32	256

Tab. 12: HAH-AK-Titer nach Titration verschiedener PMV-Taubenisolate gegen monospezifisches
PMV 14/83- und NDV-Montana-Antiserum

Abb. 10: IVPI-Werte einiger PMV-Taubenisolate



4. 13 Herkunftsorte von PMV-Taubenisolaten und/oder
Taubenseren mit HAH-Ak gegen PMV 14/83

Abb. 11 zeigt die Herkunftsorte der im Jahr 1983 an das Institut für Geflügelkrankheiten in Oberschleißheim eingesandten Taubenseren mit HAH-Ak gegen PMV 14/83 und von Untersuchungsmaterialien, aus denen PMV isoliert wurde.

4. 14 Seuchenlage bei den Münchener Stadttauben in den
Jahren 1983/84

Gruppen von 25, 30 und 10 Stadttauben wurden in den Monaten Juli bis November 1983 und Februar 1984 an 6 verschiedenen Plätzen in München eingefangen und geblutet (Abb. 12). Während nur 5 von 25 Tauben an der Maximiliansstraße im Monat Oktober 1983 HAH-Ak gegen PMV 14/83 besaßen, waren es im Februar 1984 13 von 30 (Tab. 13).

Bei einer 2. Blutentnahme im Monat März 1984 hatten 3 von 10 Stadttauben am Candidplatz, 5 von 6 Stadttauben in der Hirschau und 6 von 10 Stadttauben am Schyrenplatz HAH-Ak gegen PMV 14/83 (Tab. 13).

Abb. 11: Herkunftsorte von PMV-Taubenisolaten und Taubenseren mit HAH-Ak gegen PMV 14/83 innerhalb Bayerns



Taubenseren mit HAH-Ak gegen PMV 14/83

PMV-Taubenisolat

Abb. 12: Übersicht über die Herkunfts-
orte der Münchener Stadttauben



Tab. 13: Münchener Stadtauben

Herkunfts- orte	1. Blutentn. Monat/Jahr	2. Blutentn. Monat/Jahr	1. Blutentn. n' / n	2. Blutentn. n' / n
Candidplatz	7/1983	3/1984	0 / 25	3 / 10
Karlsplatz (Stachus)	8/1983	/	0 / 10	/
Sendlinger- torplatz	9/1983	/	0 / 10	/
Hirschau	10/1983	3/1984	5 / 25	5 / 6
Schyrenplatz	11/1983	3/1984	0 / 25	6 / 10
Maximilians- straße	2/1984	/	13 / 30	/

n' = Anzahl der Seren mit HAH-AK gegen das PMV 14/83
n = Gesamtzahl der im HAH untersuchten Seren
/ = keine Seren verfügbar

4.15

Impfprogramme

4 verschiedene Impfprogramme wurden hinsichtlich ihrer Schutzwirkung gegen PMV 14/83 und der Persistenz von HAH-Ak gegen NDV-Montana überprüft.

Hierzu wurden Taubenkollektive mit den entsprechenden Impfstoffen vakziniert und Untergruppen zu verschiedenen Zeitpunkten mit PMV 14/83 belastet. Im Folgenden werden bei den verschiedenen Impfprogrammen die durchschnittlichen HAH-Ak-Titer in log 2 angegeben.

4.15.1

Impfung mit Sotavax^R

Die höchsten Werte wurden mit 2,2 3 Wochen p.vacc. erreicht. Zum Zeitpunkt der 1. Belastungsinfektion betrugen sie 1,8 und zum Zeitpunkt der 2. Belastungsinfektion 0,2 (Abb. 13).

4.15.2

Impfung mit Lomavac^R und Revakzination mit Newcavac^R

Während bis zu 3. Woche p.vacc. keine HAH-Ak gegen NDV-Montana festgestellt werden konnten, waren sie in der 4. bis 6. Woche p.vacc. in Höhe von 0,3 vorhanden.

Bereits in der 1. Woche p.revacc. stiegen sie auf 3,9 an und hatten in der 2. Woche p.revacc. ihren Höchststand mit 5,1 erreicht.

Zum Zeitpunkt der 1. Belastungsinfektion betrugen sie 3,5 und zum Zeitpunkt der 2. Belastungsinfektion 3,4 (Abb. 14).

4.15.3

Impfung mit Newcavac^R

3 Wochen p.vacc. war der höchste Ak-Spiegel mit 5,6 vorhanden. Zum Zeitpunkt der 1. Belastungsinfektion betrugen die HAH-Ak 4,8; zum Zeitpunkt der 2. 3,5; zu dem der 3. 1,8 und zu dem der 4. 0,5 (Abb. 15).

4.15.4 Impfung und Revakzination mit Newcavac^R
im Abstand von 3 Monaten

Die höchsten Werte wurden 3 Wochen p.revacc. ermittelt.
4 Wochen p.revacc. waren sie in Höhe von 6,5 und zum Zeitpunkt der 2. Belastungsinfektion in Höhe von 4,8 vorhanden (Abb. 16).

4.16 Belastungsinfektionen bei den geimpften
Tauben

Alle geimpften Tauben wurden 4 und 8 Wochen p.vacc. oder revacc. mit der Belastungsinfektionsdosis von 10^7 KID₅₀ der 2. Eipassage des PMV 14/83 i.m. infiziert.

Nach Impfung mit Newcavac^R wurden die vakzinierten Tauben darüberhinaus 4 und 8 Monate p.vacc. belastet.

Krankheitsanzeichen traten lediglich bei einer der mit Newcavac^R geimpften Tauben auf, die 8 Monate p.vacc. einer Belastungsinfektion unterworfen wurden. Zum Zeitpunkt der Belastung waren bei diesem Tier keine HAH-Ak in nachweisbarer Menge vorhanden.

Alle übrigen Modalitäten führten zu einer vollständigen Immunität.

HAH-Ak-Titer

2^n

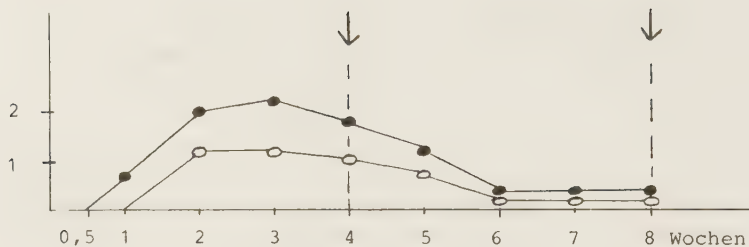


Abb. 13: HAH-Ak-Verlauf nach Impfung mit Sotavax^R gegen PMV 14/83 (o) und NDV-Montana (●).

↓ Zeitpunkt der Belastungsinfektion bei einer Untergruppe

HAH-Titer zu Abb. 13

Wochen nach Impfung		0,5	1	2	3	4	5	6	7	8
	n	10	10	10	10	10	5	5	5	5
● NDV-Montana	$\bar{x}$	0	0,7	2,0	2,2	1,8	1,2	0,4	0,4	0,4
	s	0	1,2	1,3	1,3	1,3	1,1	0,9	0,9	0,9
○ PMV 14/83	$\bar{x}$	0	0	1,2	1,2	1,0	0,7	0,2	0,2	0,2
	s	0	0	1,5	1,2	1,4	1,1	0,4	0,4	0,4

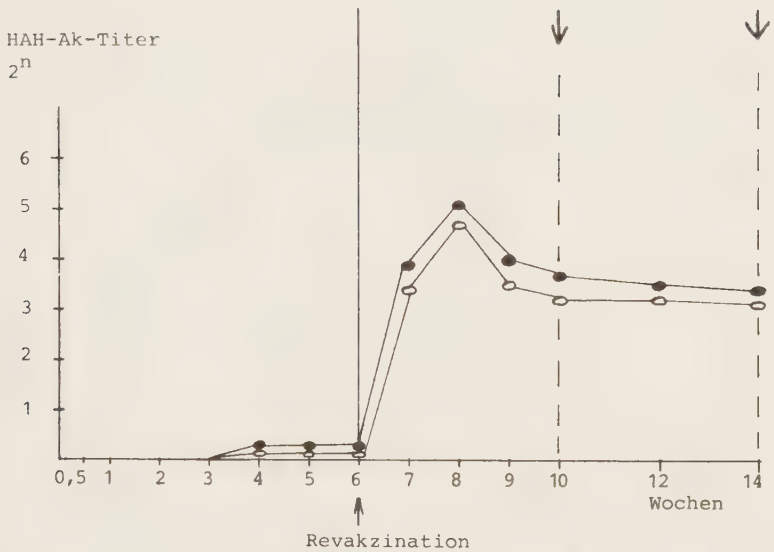


Abb. 14: Verlauf der HAH-Ak nach Vakzination mit Lomavac^R und Revakzination mit Newcavac^R gegen PMV 14/83 (○) und NDV-Montana (●).

↓ Zeitpunkt der Belastungsinfektion bei einer Untergruppe

HAH-Titer zu Abb. 14

Wochen nach Impfung		0,5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	14
	n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	5	5
● NDV-Montana	$\bar{x}$	0	0	0	0	0,3	0,3	0,3	3,9	5,1	4,0	3,7	3,5	3,4
	s	0	0	0	0	0,7	0,7	0,7	0,8	1	1,3	1,3	1,1	1
○ PMV 14/83	$\bar{x}$	0	0	0	0	0,1	0,1	0,1	3,4	4,7	3,5	3,2	3,2	3,1
	s	0	0	0	0	0,3	0,7	0,7	0,5	0,9	1,3	1,1	0,9	1,1

HAH-Ak-Titer
 2^n

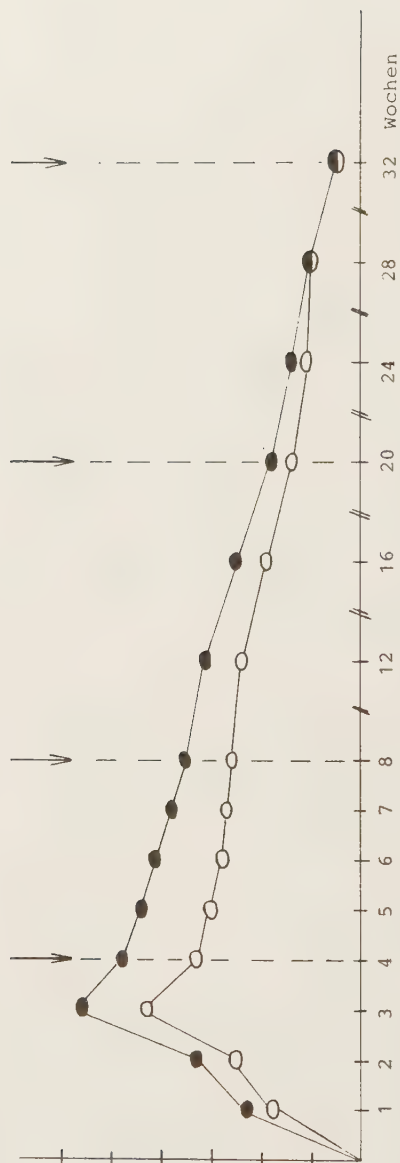


Abb. 15: Verlauf der HAH-Ak nach Impfung mit Newcavac^R gegen PMV 14/83 (○) und NDV-Montana (●).

↓ Zeitpunkt der Belastungsinfektion bei einer Untergruppe

HAH-Titer zu Abb. 15

Wochen nach Impfung	1	2	3	4	5	6	7	8	12	16	20	24	28	32
n	20	20	20	20	15	15	15	15	10	10	10	5	5	5
● NDV-Montana	$\bar{x}$ 2,3	3,3	5,6	4,8	4,4	4,1	3,8	3,5	3,1	2,5	1,8	1,4	1,0	0,5
s	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5	0,3	0,5	0,4	0,5	0,7	0,9
○ PMV 14/83	$\bar{x}$ 1,8	2,5	4,3	3,3	3,0	2,8	2,7	2,6	2,4	1,9	1,4	1,1	1,0	0,5
s	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6	0,5	0,6	0,5	0,4	0,5	0,5	0,4	0,7	0,5

HAH-Ak-Titer

2^n

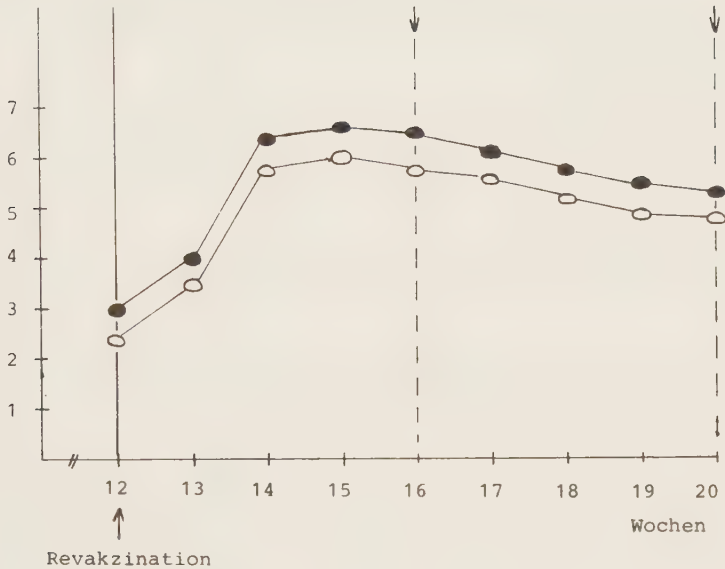


Abb. 16: Verlauf der HAH-Ak nach Vakzination und Revakzination mit Newcavac^R gegen PMV 14/83 (○) und NDV-Montana (●).

↓ Zeitpunkt der Belastungsinfektion bei einer Untergruppe

HAH-Titer zu Abb. 16

Wochen nach Impfung		12	13	14	15	16	17	18	19	20
● NDV-Montana	n	10	10	10	10	10	5	5	5	5
	$\bar{x}$	3,0	4,0	6,4	6,6	6,5	6,1	5,8	5,5	5,3
	s	0,7	0,8	0,7	0,8	0,8	0,7	0,6	0,5	0,5
○ PMV 14/83	n	10	10	10	10	10	5	5	5	5
	$\bar{x}$	2,4	3,5	5,8	6,0	5,8	5,6	5,2	4,3	4,8
	s	0,5	0,5	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,4

5. Elpass.

4.17

Impfkomplikationen

Impfkomplikationen traten lediglich bei den mit Newcavac^R geimpften Tauben auf.

Nach der Erstimpfung mit 0,5 ml s.c. konnten bei ca. 7% der Tiere Impfabzesse an der Einstichstelle festgestellt werden, wobei der Prozentsatz bei Rassetauben mit durchschnittlich 10% deutlich höher lag als der bei Reisetauben mit durchschnittlich 5%.

Von den 12314 geimpften Brief- und Rassetauben starben 5 Tauben unmittelbar nach der Impfung. 2 von ihnen wurden im Institut sezziert.

Pathologisch-anatomisch waren bei beiden Tauben ca. 5-Mark-Stück-große, blutige Infiltrationen der Subkutis im Bereich des Nackens sowie eine Stauungsblutfülle von Lunge, Leber und Nieren festzustellen.

Die virologischen Untersuchungen verliefen negativ, die bakteriologischen ergaben einen unspezifischen Keimgehalt der Leber.

Histologisch war eine hochgradige Stauungsblutfülle der Nieren sowie Blutungen in der Lunge festzustellen, in der sich außerdem einzelne granulozytäre Ansammlungen befanden. In der Leber waren vereinzelt entzündlich-perivaskuläre Infiltrate vorhanden.

Eine Zweitimpfung von 4893 Tauben fand vom 14.11.1983 bis zum 22.2.1984 statt (Tab. 16). Über die Rate der Abszeßbildungen bei den in diesem Zeitraum geimpften Tauben kann keine Aussage gemacht werden, da die Besitzer über das mögliche Auftreten dieser Impfreaktion in Kenntnis gesetzt worden waren und sie deshalb dem Institut auch nicht meldeten.

Von 4893 Tauben starb 1 Tier unmittelbar nach der Impfung.

4.18

Verträglichkeit des für die Impfstoffherstellung benutzten Trägeröls bei Tauben

Da angenommen werden mußte, daß die Abszeßbildungen bei den geimpften Tauben aufgrund von Unverträglichkeit des im Impfstoff enthaltenen Mineralöls zustandekamen, wurden jeweils 1 ml des

für die Impfstoffherstellung benutzten Trägeröls i.m. und s.c. in Tauben injiziert. Es traten jedoch keine Gewebsreaktionen an den Einstichstellen und keine Störungen des Allgemeinbefindens auf.

Tab. 16: Impfkomplikationen nach subcutaner Injektion von Newcavac^R

Art der Impfung	Dosis	Anzahl der geimpften Tauben	Impfzeit- raum	Anzahl der Abszeßbil- dungen (%)	Todesfälle insgesamt
Erstimpfung	0,5ml s.c.	12314	8.7.1983- 14.11.1983	7	6
Zweitimpfung	0,25 ml s.c.	4893	15.11.1983- 22. 2.1984		1

5. Diskussion

Zur Differenzierung und Klassifizierung von neu hinzukommenden aPMV-Taubenisolaten ist in erster Linie der Kreuz-HAH mit den Referenzstämmen der 9 aPMV - Serogruppen geeignet (ALEXANDER, 1980). Darüberhinaus empfiehlt sich der VN-Test sowie ein Vergleich der Polypeptidprofile (ALEXANDER, 1982).

Ein Vergleich der 2. und 5. Eipassage des PMV 14/83 mit den Prototypstämmen von 7 aPMV-Serogruppen ließ eine deutliche Verwandtschaft der 5. Eipassage mit 2 log 2-Stufen Unterschied zu NDV-Montana erkennen. Die 2. Eipassage war mit 3 log 2-Stufen Unterschied weniger deutlich verwandt.

Außerdem bestand eine geringe Beziehung zur 3. Serogruppe.

Eine Zuordnung des PMV 14/83 zur Serogruppe 5 der aPMV ist unwahrscheinlich, da die Vertreter der 5. bislang lediglich aus Wellensittichen isoliert wurden.

CLOUD und ROSENBERGER (1980) stellten serologische Unterschiede zwischen PMV 1, 2 und 3 und PMV 8 fest, sodaß eine Zuordnung des PMV 14/83 zur Serogruppe 8 nicht in Frage kommt.

Bestätigt wurde die Einordnung des PMV 14/83 in die erste Serogruppe der aPMV auch durch den Vergleich mit NDV-Montana im VN-Test.

Darüberhinaus erwies sich PMV 14/83 mit dem mesogenen, aus Tauben isolierten NDV-Stamm 135 verwandt.

Um Unterschiede oder auch Ähnlichkeiten in der Anzahl und den Molekulargewichten der Proteine von NDV-Montana und PMV 14/83 aufzudecken, wurden die beiden Virusstämmen in der SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese miteinander verglichen. Die Molekulargewichte der HN-Proteine wichen um 1000 D und die eines kleineren Proteins "(minor polypeptide)" um 5000 D voneinander ab.

Ein Vergleich der Molekulargewichte dieses "minor polypeptides" mit denen von MOUNTCASTLE et al. (1971) für NDV angegebenen läßt vermuten, daß es sich bei diesem Polypeptid um das NP handelt.

Außerdem war bei PMV 14/83 eine zusätzliche Bande zwischen dem HN- und F-Protein vorhanden, die bei NDV-Montana fehlte.

Diese Beobachtungen stimmen mit denen von ALEXANDER und COLLINS (1981) überein, die bei einem Vergleich von 5 NDV-Stämmen Molekulargewichtsunterschiede bis zu 3000 D feststellten.

Darüberhinaus entdeckten sie verschiedene Molekulargewichte bei 3^{minor polypeptides}, die sich zwischen den 55000 D- und 42000 D-Polypeptiden befanden.

Bei NDV-Ma 35 war eine zusätzliche Bande von 65000 D vorhanden, die mit der von 69000 bei PMV 14/83 von der Lage her übereinstimmt (ALEXANDER und COLLINS 1981).

Mit monoclonalen Antikörpern konnten bei einem Vergleich von PMV 14/83 mit klassischen PMV 1-Stämmen Antigenunterschiede der HN-, nicht aber der NP- und F-Polypeptide nachgewiesen werden (ALEXANDER 1983 b).

Zur näheren Charakterisierung des PMV 14/83 war es notwendig, die Virulenz dieses Taubenisolates zu bestimmen.

Kriterien für die Virulenz eines NDV-Stammes sind:

Die MDT
Der ICPI
Der IVPI

Die MDT der 2. Eipassage des PMV 14/83 betrug 86 Stunden, die der 4. Eipassage 94 Stunden. P_{3g} hatte eine MDT von 104 Stunden. P_{3k} verursachte während eines Beobachtungszeitraumes von 128 Stunden keine Embryomortalität.

Die ICPI-Werte wichen kaum voneinander ab. Für die 2. Eipassage wurde ein ICPI von 1,3 und für die 5. und 18. Eipassage ein Index von 1,4 ermittelt.

Der ICPI des P_{3g} betrug 1,4 und der des P_{3k} 1,05.

Während für die 5. Eipassage und P_{3g} des PMV 14/83 IVPI-Werte von 0,0 ermittelt wurden, erreichte die 2. Eipassage einen Index von 0,3. Faßt man diese Werte zusammen und vergleicht sie mit den von ALLAN et al. (1978) angegebenen, so fällt es schwer,

das PMV 14/83 einzuordnen. Der ICPI und IVPI der 2. Eipassage lassen ein mesogenes Virus vermuten. Die MDT entspricht jedoch der eines lentogenen NDV-Stammes.

Ähnliches trifft für die 5. Eipassage zu. MDT- und IVPI-Werte sprechen für ein lentogenes Virus, der ICPI jedoch für ein mesogenes. Nimmt man jedoch die von HANSON und BRANDLY (1955) angegebenen MDT-Werte, so ist die 2. Eipassage als mesogen und die 5. als lentogen zu bezeichnen.

Da die Virulenzunterschiede des P_{3g} und P_{3k} im ICPI unbedeutend waren, trifft im vorliegenden Fall die von HANSON (1980) gefundene Erklärung eines Virulenzverlustes von NDV mit fortschreitender Eipassagezahl nicht zu. Er kam zu dem Ergebnis, daß die schwach virulenten Klone die virulenteren in ihrer Pathogenität hemmen.

Als weiteres Unterscheidungsmerkmal für NDV-Stämme werden von NITZSCHKE und SCHMITTDIEL (1963) die Thermoresistenz des Häm-agglutinins angegeben.

Die 2. Eipassage des PMV 14/83 erwies sich thermostabiler als NDV-Montana.

Für Mohrenkopfpapageien, Wellensittiche und 8-wöchige Hähne war keine Pathogenität der 4. Eipassage nach parenteraler Infektion zu verzeichnen. Allerdings lag bei den Hähnen und Mohrenkopfpapageien eine generelle Serokonversion vor.

Die Wellensittiche hatten sowohl nach der i.m.-Impfung mit 0,25 ml Newcadin^R als auch nach der i.m.-Infektion mit der 4. Eipassage des PMV 14/83 keine HAH-Antikörper in nachweisbarer Menge ausgebildet. Dieses stimmt mit den Beobachtungen von LÜTHGEN (1981) überein.

Die mit der 2. Eipassage des PMV 14/83 künstlich infizierten Tauben erkrankten ab dem 5. Tag p.i. unter Polyurie, einseitiger Lähmung der Ständer und ein- oder beidseitiger Flügelähme. Die HAH-Antikörperbildung war in der 3. Woche p.i. am höchsten. Die Virusausscheidung dauerte in den meisten Fällen bis zum 21. Tag p.i.. Nur in einem Fall war sie bis zum 35. Tag p.i. vorhanden.

Über eine Virusausscheidung vor dem 5. Tag p.i. kann keine Aus-

sage gemacht werden, da die Kloakaltupferproben erst ab dem 5. Tag p.i. genommen wurden.

Diese Beobachtungen stimmen mit denen von ERICKSON et al. (1979) überein, die eine künstliche intraokuläre Infektion bei Tauben mit dem VVNDV-Fontana durchführten.

Sie stellten eine Virusausscheidung mit dem Kot vom 3. bis zum 21. Tag p.i. bei den juvenilen und vom 3. bis 7. Tag p.i. bei den adulten Tauben fest.

Da bei den eigenen Untersuchungen eine Mischpopulation aus alten und juvenilen Tauben verwendet wurde, ist erklärbar, warum einige Tauben das Virus nur über einen sehr kurzen Zeitraum ausschieden, während die Virusausscheidung bei anderen bis zum 21. Tag p.i. und darüberhinaus anhielt.

Auch ERICKSON et al. (1979) beobachteten Flügellähme und Beinparalyse bei den infizierten Tauben und eine HAH-Antikörperbildung, die in der 3. Woche p.i. ihren Höchststand erreichte.

Da im Verlauf des Jahres 1983 zahlreiche PMV-Isolate aus Tauben in Bayern gewonnen werden konnten und selbst die Stadttauben in München im Verlauf des Jahres 1983 und zu Beginn des Jahres 1984 zunehmend HAH-Antikörper gegen PMV 14/83 besaßen, war es von entscheidender Bedeutung, geeignete Impfprogramme zu finden, um den durch die Krankheit auftretenden wirtschaftlichen Verlust zu mindern und eine weitere Verbreitung der "Paramyxovirose" zu verhindern.

Alle überprüften ND-Impfstoffe waren, wenn auch graduell verschieden, für prophylaktische Impfungen geeignet.

Da jedoch aufgrund der allgemeinen Seuchensituation in Deutschland nur sehr wenige Tauben keinen Kontakt mit dem Virus gehabt hatten oder ungeimpft waren, erwies es sich als äußerst schwierig, aussagekräftige Impfprogramme durchzuführen. Eine zu geringe Taubenzahl oder ein sehr kurzer Überprüfungszeitraum waren die beiden zur Verfügung stehenden Alternativen.

Um zu aussagekräftigen Ergebnissen zu gelangen, wurde der Untersuchungszeitraum für den Lebendimpfstoff Sotavax^R auf 8 Wochen beschränkt, während dem in Deutschland meistverwendeten Impfstoff Newcavac^R, einer inaktivierten Ölemulsionsvakzine, ein Beobachtungszeitraum von 8 Monaten eingeräumt wurde. Die übrigen Impfkombinationen lagen dazwischen.

Alle geimpften Tauben zeigten sich nach Belastungsinfektionen 4 und 8 Wochen p.vacc. bzw. p.revacc. geschützt.

Die höchsten HAH-Antikörper wurden nach Vakzination bzw. Revakzination mit Newcavac^R erzielt. Sotavax^R und der Lebend-Adsorbat-Impfstoff Lomavac^R induzierten eine nur geringe Antikörperbildung.

4 und 8 Monate nach der Impfung mit 0,5 ml Newcavac^R wurden jeweils 5 Tauben einer Belastungsinfektion unterworfen. Während die nach 4 Monaten infizierten Tauben eine vollständige Immunität aufgebaut hatten, erkrankte 1 nach 8 Monaten belastete Taube unter einseitiger Flügelähme und Polyurie.

Daraus läßt sich folgern, daß die Schutzwirkung bei Newcavac^R mindestens 4 Monate, jedoch weniger als 8 Monate anhält. Eine Überprüfung der Höhe und Dauer von HAH-Antikörpern in geimpften Reise- und Rassetaubenbeständen sowie eine Beobachtung dieser Betriebe läßt jedoch vermuten, daß der Impfschutz 6 bis 7 Monate andauert, wobei sich interkurrierende Feldinfektionen, die einen Boostereffekt haben, nicht immer ausschließen ließen.

Eine Vakzination mit Sotavax^R ist allenfalls vor oder während der Brutzeit bei Reisetauben zu empfehlen, da vermutet werden muß, daß der Impfschutz kaum länger als 2 bis 3 Monate anhält, da eine nur sehr geringe Antikörperstimulierung und kurze Persistenz von HAH-Antikörpern vorhanden war.

Die kombinierte Impfung von Lomavac^R und Newcavac^R entfällt aufgrund wirtschaftlicher und praktischer Überlegungen.

Vakzination und Revakzination mit Newcavac^R im Abstand von 3 Monaten sind zwar erwägenswert, jedoch in der Praxis aufgrund der anfallenden Kosten kaum durchführbar.

Da an jeden Impfstoff nicht nur die Forderung der Wirksamkeit, sondern auch der Verträglichkeit zu stellen ist, wurde bei den vakzinieren Tauben auf klinische und Gewebsreaktionen geachtet.

Nach Impfung mit Sotavax^R und Lomavac^R waren keine Unverträglichkeiten zu beobachten, während die Applikation von Newcavac^R vereinzelt zu Abszeßbildungen führte. Eine i.m.- und s.c.-Injektion von den für die Impfstoffherstellung benutzten Trägerölen führte jedoch zu keinen Gewebsreaktionen, sodaß die Vermutung naheliegt, daß sich ein im Impfstoff vorhandener Emulgator als störende Komponente auswirkt. Ein Zusammenhang zwischen den nach der Vakzination aufgetretenen Todesfällen und der applizierten Newcavac^R - Vakzine muß in Frage gestellt werden, da die Tiere offensichtlich vorgeschädigt waren und unter eindeutigen Schocksymptomen starben. Außerdem war ein Zusammenhang zwischen der Jahreszeit und der Anzahl der Todesfälle zu beobachten. Sie traten zu über 75% während der Sommermonate auf, wobei sicherlich die hohe Temperatur in den Schlägen und der lange Wasserentzug nach dem Einkorben eine große Rolle spielten.

Ein Abwägen des Schaden-Nutzen-Prinzips läßt die Empfehlung einer Impfung mit einer inaktivierten Ölemulsionsvakzine zu, wobei Reisetauben s.c. und Rasetauben i.m. geimpft werden sollten, da die Funktionsfähigkeit der Brustmuskulatur für Reisetauben von entscheidender Bedeutung ist, während bei Rasetauben mehr auf das äußere Erscheinungsbild geachtet wird, sodaß sich bei ihnen eine Abszeßbildung am Nacken als störend und wertmindernd auswirken würde.

6.

Zusammenfassung

Nach den angewandten Kriterien ist das PMV pigeon/Munich/14/83 eindeutig in die aPMV-Serogruppe 1 einzuordnen. Gegenüber dem Hühnerstamm Montana bestehen jedoch bezogen auf das HN-Antigen serologische und biochemische Unterschiede.

Die nach verschiedenen Kriterien überprüften 10 Feldisolate sind serologisch einheitlich zu PMV 1 pigeon/Munich/14/83, jedoch unterschiedlich zu NDV-Montana.

In Abhängigkeit von Herkunft und/oder Passagezahl besitzen die untersuchten PMV-Taubenisolate voneinander abweichende Pathogenitätsmerkmale.

Die mit natürlich infizierten Tauben in Kontakt lebenden Hühner und Fasane sowie die künstlich infizierten Wellensittiche und Mohrenkopfpapageien erkranken klinisch nicht.

Bei den Hühnern tritt jedoch eine generelle Seroconversion auf.

Aufgrund der derzeitigen allgemeinen Seuchenlage bei Haus- und Stadtauben wird die Vakzination der Reise- und Rassetaubenbestände empfohlen.

Nach den eigenen Untersuchungen eignet sich dafür eine inaktivierte ND-Vakzine auf Ölemulsionsbasis. Sie verleiht eine belastbare Immunität, die mindestens 4 Monate, jedoch weniger als 8 Monate anhält.

Die Beobachtung von vakzinierten Reise- und Rassetaubenbeständen läßt jedoch einen Impfschutz von 6 bis 7 Monaten vermuten.

The characterization and classification of the "pigeon-paramyxovirus" and efficiency of different Newcastle-Disease-vaccines for pigeons (*Columba livia* Gmel. 1789 var. dom.)

Summary

According to the applied methods the PMV pigeon/Munich/14/83 definitely belongs to aPMV-serogroup 1. Compared with the chicken-strain Montana, however, there are serological and biochemical differences of the HN-Antigen.

The 10 field-isolates, which were examined with different methods, are serologically similar to PMV 1 pigeon/Munich/14/83, but different from NDV-Montana.

According to the place of isolation and/or the number of passages the examined PMV-pigeon-isolates possess different pathogenicity characteristics.

Chicken and pheasants, which were living in contact with naturally infected pigeons, didn't show any clinical disease.

However, there was a general seroconversion in the chickens.

According to the present general situation for domestic and wild pigeons the vaccination of homing and pedigree pigeons is suggested.

Own investigations lead to the opinion, that an inactive oil-emulsion-ND-vaccine is efficient, giving a complete immunity for more than 4 months but less than 8 months.

The observations of vaccinated homing and pedigree pigeons suggest that the vaccine-protection lasts 6 to 7 months.

Estudio sobre la caracterización y clasificación del virus paramyxo-paloma, así como de la protección que confieren diferentes vacunas contra la Enfermedad de Newcastle en palomas

Resumen

Según los criterios utilizados el paramyxovirus paloma Munich/14/83 se clasifica claramente en el serogrupo 1 de paramyxovirus aviares. Por el contrario a la cepa gallina Montana presenta en relación al antígeno hemaglutinina y neuroaminidasa (HN) diferencias bioquímicas y serológicas.

Los 10 aislados de campo que se examinaron según diferentes criterios, son serológicamente idénticos al virus paramyxo 1 Paloma/Munich/14/83, sin embargo son diferentes del virus de la Enfermedad de Newcastle-Montana. Dependiendo del lugar de origen de la cepa y/o número de pasajes poseen los aislados de virus paramyxo-paloma diferencias en su patogenicidad.

Gallinas y faisanes en contacto con palomas infectadas en forma natural no presentan enfermedad clínica; pero las gallinas producen anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación.

En razón a la actual situación de infecciosidad generalizada, tanto en palomas domésticas como libres, sería recomendable vacunar los plantales de palomas mensajeras y de raza.

Después de la investigación realizada es posible recomendar la aplicación de una vacuna contra la enfermedad de Newcastle inactivada oleosa; ella confiere una completa inmunidad que perdura por un mínimo de 4 meses y menos de 8 meses.

La observación de plantales de palomas, tanto mensajeras como de raza vacunados, permite suponer una protección por la vacuna de 6 a 7 meses.

7.

Literaturverzeichnis

- Abenes, G.B.
Kida, H.
Yanagawa, R.
Avian paramyxoviruses possessing antigenically related HN but distinct M proteins
Arch.Virol. 77, 71-76, 1983
- Alexander, D.J.
Allan, W.H.
Newcastle disease virus pathotypes
Avian Pathol. 3, 269-278, 1974
- Alexander, D.J.
Comparison of the structural polypeptides of four avian paramyxoviruses.
Arch.ges.Virusforsch. 46, 291-301, 1974 b)
- Alexander, D.J.
Chettle, N.J.
Relationship of parakeet/Netherlands/449/75 virus to other avian paramyxoviruses
Res.vet.Sci. 25, 105-106, 1978
- Alexander, D.J.
Shortridge, K.F.
Collins, M.S.
Chettle, N.J.
Properties of a newly isolated serologically distinct avian paramyxovirus
Arch.Virol. 60, 105-113, 1979 b)
- Alexander, D.J.
Aymard, M.
Kessler, N.
Collins, M.S.
Antigenic and structural relationships between avian paramyxoviruses isolated from duck in Hong Kong und Mississippi, U.S.A.
J.gen.Virol. 44, 839-842, 1979 c
- Alexander, D.J.
Avian paramyxoviruses
Vet.Bull. 50, 737-752, 1980 a
- Alexander, D.J.
Collins, M.S.
The structural polypeptides of avian paramyxoviruses
Arch. Virol. 67, 307, 1981

- Alexander, D.J.
Hinshaw, V.S.
Collins, M.S.
- Characterization of viruses from doves representing a new serotype of avian paramyxoviruses
Arch. Virol. 68, 265-269, 1981
- Alexander, D.J.
- Avian paramyxovirus - other than Newcastle disease virus
Wld's Poult.Sci 38, 97-104, 1982
- Alexander, D.J.
Hinshaw, V.S.
Collins, M.S.
Yamane, N.
- Characterization of viruses which represent further distinct serotypes (PMV-8 and PMV-9) of avian paramyxoviruses
Arch. Virol. 78, 29-36, 1983
- Alexander, D.J.
- Persönliche schriftliche Mitteilung an Herrn Dr.R. Richter vom 19. Juli 1983
- Ahmed, A.A.S.
Reda, I.M.
- Response of pigeons to eight strains of Newcastle disease virus
Avian Dis. 11, 734-740, 1967
- Allan, W.H.
Lancaster, J.E.
Toth, B.
- Newcastle disease vaccines, their production and use
FAO Animal Production and Health Series Nr. 10. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 1978
- Bankowski, R.A.
Corstvet, R.E.
- Isolation of an unidentified agent from the respiratory tract of chickens
Science 132, 292-293, 1960
- Bankowski, R.A.
Corstvet, R.E.
- Isolation of a haemagglutinating agent distinct from Newcastle Disease from the respiratory tract of chickens
Avian Dis. 5, 253-269, 1961

- Beach, J.R. Avian pneumoencephalitis
N.Am.Vet. 24, 288-292, 1943
- Beach, J.R. The neutralization in vitro of avian
pneumoencephalitis virus by New-
castle Disease immune serum
Science 100, 361-362, 1944
- Beard, C.W. The influence of the route of admi-
Easterday, B.C. nistration of Newcastle Disease vi-
rus on host response. Teil 1, 2 und 3
J.Infect.Dis. 117, 55, 1967
- Beard, C.W. Demonstration of type-specific in-
fluenza antibody in mammalian avian
sera by immundiffusion
Bull.Wld.Hlth.Org. 42, 779-785, 1970
- Beard, C.W. Avian influenza antibody detection
by immundiffusion
Avian Dis. 14, 337-341, 1970
- Beard, C.W. Immunity to Newcastle Disease
Brugh, M. Jr. Am.J.Vet.Res. 36, 509-512, 1975
- Becker, Y 14. Single-stranded RNA minus viru-
ses with an intact genome: paramy-
xoviruses
Molekular virology
Martinus Nijhoff Publishers
The Hague/Boston/London, 153-161,
1983
- Cloud, S.S. Characterization of Nine Avian
Rosenberger, J.K. Paramyxoviruses
Avian Dis. 24, 139-152, 1980

- Dinter, Z.
Hermodsson, S.
Hermodsson, L.
- Studies on myxovirus Yucaipa: its classification as a member of the paramyxovirus group
Virol. 22, 297-304, 1964
- Doyle, T.M.
- A hitherto unrecorded disease of fowls due to a filter-passing virus
J.comp.Path. 40, 144-169, 1927
zitiert nach ALEXANDER, D.J., 1980
- Easterday, B.C.
- Immunity to Newcastle Disease and avian influenza
Avian Immunology, edited by Rose, M.E., Payne, L.N. und Freeman, B.M.
Poult.Sci Symp. 16, 179-185, 1981
- Erickson, G.A.
Brugh, M.
Beard, C.W.
- Viscerotropic velogenic Newcastle Disease in pigeons: clinical disease and immunization
Avian Dis. 24, 257-266, 1979
- Garside, J.S.
- Intensive Livestock Husbandry, Part 1, Poultry Production
Discussion Vet.Rec. 78, 523, 1966
- Gomez-Lillo, M.
Bankowski, R.A.
Wiggins, A.D.
- Antigenic relationships among viscerotropic velogenic and domestic strains of Newcastle Disease virus
Am.J.vet.Res. 35, 471-475, 1974
- Gough, R.E.
Alexander, D.J.
- Isolation and preliminary characterisation of a paramyxovirus from collared doves (*Streptopelia decaocto*)
Avian Pathol. 12, 125-134, 1983
- Greuel, E.
- Atypische Geflügelpest bei Tauben (Vorläufige Mitteilung)
Die Vogelklinik 3, 101-103, 1972

- Hanson, R.P.
Brandly, C.A. Identification of vaccine strains
of Newcastle Disease virus
Science 122, 156-157, 1955
- Hanson, R.P. Newcastle disease virus, an evol-
ving pathogen
Edited by Hanson, R.P.
The University of Wisconsin Press,
Madison and Milwaukee, 1964
- Hanson, R.P. Newcastle Disease. In: Diseases of
poultry
6th Ed. by M.D.Hofstad, Iowa State
University Press, Ames, Iowa, 1972
- Hanson, R.P. Newcastle Disease. In: Isolation
and identification of avian patho-
gens, edited by S.B. Hitchner et al.
American Association of Avian Patho-
logists. Arnold Printing Co., Ithaca,
160-173, 1975
- Hanson, R.P. Newcastle Disease. In: Diseases of
poultry, 7th ed.
Edited by M.S. Hofstad et al., Iowa
State University Press, Ames, 1978
- Hanson, R.P.
Spalatin, J. Suppression of inherent virulence
for chickens of a Newcastle Disease
strain by a shift within its sub-
populations
Avian Dis. 25, 225-227, 1980
- Heffels, U.
Fritzsche, K.
Kaleta, E.F.
Neumann, U. Serologische Untersuchungen zum Nach-
weis virusbedingter Infektionen bei
der Taube in der Bundesrepublik
Deutschland
Dtsch.tierärztl.Wschr. 88, 97-102,
1981

- Hightower, L.E.
Morrison, T.G.
Bratt, M.A. Relationships among the polypeptides of Newcastle-Disease-virus
Avian Dis. 17, 354-361, 1975
- Hilbrich, P. Natürliche Newcastle-Infektion in einem Taubenbestand
Dtsch.tierärztl.Wschr. 79, 177-204, 1972
- Hönig, J. Analyse der Fusions (F-) proteine der in ihrer Infektiosität veränderten Sendai (6/94-) Viren aus Fusionszellen. Diplomarbeit des Fachbereichs Biologie der Ludwig-Maximilians-Universität München, 1983
- Kaleta, E.F.
Siegmann, O.
Lüders, H.
Janssen, W. Kinetik NDV-spezifischer Antikörper in Hühnern
1. Methode und Reproduzierbarkeit des HAH-Testes
Avian Pathol. 1, 35-45, 1972
- Kaleta, E.V.
Siegmann, O.
Lüders, H.
Janssen, W. Kinetik NDV-spezifischer Antikörper in Hühnern
2. Nachweis, Bedeutung und Elimination von nicht-spezifischen Inhibitoren und Agglutininen in Hühnerseren
Avian Pathol. 2, 153-167, 1973
- Kaleta, E.F.
Heffels, U. Zum serologischen Nachweis des Paramyxovirus -1, -2 und -3 bei Tauben
Dtsch. tierärztl.Wschr. 89, 31, 1982
- Karzon, D.T.
Bang, F.B. The pathogenesis of infection with a virulent (GG 179) and an avirulent (B) strain of Newcastle Disease virus in chickens
J.Exp.Med. 93, 267, 1951

- | | |
|--|---|
| Kida, H.
Yanagawa, R. | Isolation of a new avian paramyxovirus from a rock pigeon (<i>Columba livia</i>)
Zbl.Bakt.Hyg. I, Abt.Orig.A <u>245</u> ,
421-428, 1979 |
| Klenk, H.-D.
Caliguiri, L.A.
Choppin, P.W. | The protein of parainfluenza virus SV 5
The carbohydrate content and glycoproteins of the virion
Virol. <u>38</u> , 255-268, 1970 |
| Klenk, H.-D.
Nagai, Y.
Rott, P.
Nicolai, C. | The structure and function of paramyxovirus glycoproteins
Med.Microbiol.Immunol. <u>164</u> , 35-47, 1977 |
| Kraneveld, F.G. | A poultry disease in the Dutch East Indies
Ned.Ind.Bl.Diergeneesk. <u>38</u> , 448-451, 1926
Zit.nach Alexander (1980) |
| Laemmli, V.K. | Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T ₄
Nature <u>227</u> , 680-685, 1970 |
| Lancaster, J.E. | Newcastle Disease, a review, 1926-1964
Monograph Nr. 3 Canada Department of Agriculture, Ottawa, Ontario, 1966 |
| Lancaster, J.E.
Alexander, D.J. | Newcastle Disease, virus and spread
Monograph Nr. 11, Canada Department of Agriculture, Ottawa, 1975 |
| Lancaster, J.E. | Newcastle Disease-pathogenesis and diagnosis
Wld's Poult.Sci J. <u>37</u> , 26-33, 1981 a |

- Lancaster, J.E.
Alexander, D.J. The Control of Newcastle Disease
Wld's Poult.Sci J. 37, 84-96, 1981 b
- Lüthgen, W. Versuche zur Immunprophylaxe der
Tauben (Columba livia dom.)
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 88,
27-30, 1975
- Lüthgen, W. Die Newcastle Krankheit bei Papageien
und Sittichen
Fortschr.Vet.Med. 31, 1981
Verlag Paul Parey, Berlin
- Lüthgen, W.
Wachendörfer, G. Newcastle Disease bei frisch impor-
tierten Großpapageien (Vorläufige
Mitteilung)
Dtsch.tierärztl.Wschr. 77, 407-408,
1970
- Mayr, A.
Bachmann, P.A.
Bibrack, B.
Wittmann, G. Virologische Arbeitsmethoden, Band I
Zellkulturen-Bebrütete Hühnereier-
Versuchstiere
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart,
1974
- Mayr, A.
Bachmann, P.A.
Bibrack, B.
Wittmann, G. Virologische Arbeitsmethoden, Band II
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart,
New York, 1977
- Mc Ewen, C.R. Tables for estimating sedimentation
through linear concentration gra-
dients of sucrose solution.
Anal.Bioch. 20, 114-119, 1967
- Mc Ferran, J.B.
Connor, T.J.
Allan, G.M.
Adair, B. Studies on a paramyxovirus isolated
from a finch
Arch.ges.Virusforsch. 46, 281-290,
1974

- Methods for examining poultry biologics and for identifying and quantifying avian pathogens
National Academy of Sciences. U.S.A.
1971
- Mountcastle, W.E.
Compans, R.W.
Choppin, P.W.
- Proteins and glycoproteins of paramyxoviruses: a comparison of Simian virus 5 Newcastle Disease and Sendai virus
J.Virol. 7, 47-52, 1971
- Nerome, K.
Nakayama, M.
Ishida, M.
Fukumi, H.
Horita, A.
- Isolation of a new avian paramyxovirus from budgerigar (*Melopsittacus undulatus*)
J.gen.Virol. 38, 293-301, 1978
- Nitzschke, E.
Schmittdiel, E.
- Zur Thermoresistenz des Hämagglutinins als kennzeichnendes Merkmal von Virusstämmen der Newcastle-Krankheit
Zbl.Vet.Med. B 10, 121-126, 1963
- Ottis, K.
Bachmann, P.A.
- Isolation and characterisation of ortho- and paramyxoviruses from feral birds in Europe
Zbl.Vet.Med.B. 30, 22-35, 1983
- Palmer, S.F.
Trainer, D.O.
- Newcastle Disease: In: Infectious and parasitic diseases of wild birds
Edited by J.W. David et al., 1971
The Iowa University Press, Ames, Iowa, 1971
- Reuss, U.
- Die Empfänglichkeit der Haustauben für die atypische Geflügelpest
Mh.Tierheilk. 13, 153-162, 1961

- Richter, R. Paramyxovirusinfektion bei Tauben
III. Tagung über Vogelkrankheiten
Tagungsbericht 86, 1983
- Richter, R. Paramyxovirusinfektion bei Rasse-
Kösters, J. tauben
Prakt.Tierarzt 64, 250, 1983
- Richter, R. Zur Paramyxovirusinfektion bei Tauben
Kösters, J. Prakt.Tierarzt 64, 915, 1983
Krämer, K.
- Richter, J. Pseudovogelpest bij een postduif
Goosens, J. T.Diergenesskde 96, 470-471, 1971
- Salda Dalla, V. La pseudo peste aviare nei colombi
viaggiaton, 1983
Schriftliche Mitteilung
- Scheid, A. Isolation of paramyxovirus glycopro-
Caliguiiri, L.A. teins. Association of both haemagglu-
Compans, R.W. tinating and neuraminidase activities
Coppin, P.W. with the larger SV 5 glycoprotein
Virol. 50, 640-652, 1972
- Scheid, A. Identification of biological activi-
Choppin, P.W. ties of paramyxovirus glycoproteins.
Activation of cell fusion, haemolysis
and infectivity by proteolytic clea-
vage of an inactive precursor protein
of Sendai virus
Virol. 57, 475-490, 1974

- Schloer, G.M.
Hanson, R.P.
Relationship of plaque size and virulence for chickens of 14 representative Newcastle Disease virus strains
Journ.Virol. 2, 40-47, 1968 a
- Schloer, G.M.
Hanson, R.P.
Plaque morphology of Newcastle disease virus as influenced by cell type and environmental factors
Am.Journ.vet.Res. 29, 883-895, 1968 b
- Seto, J.T.
Becht, H.
Rott, R.
Isolation and purification of surface antigens from disrupted paramyxoviruses
Med.Microbiol.Immunol. 159, 1-12, 1973
- Seto, J.T.
Becht, H.
Rott, R.
Effect of specific antibodies on biological functions of the envelope components of Newcastle Disease virus
Virol. 61, 354-360, 1974
- Shortridge, K.F.
Alexander, D.J.
Collins, M.S.
Isolation and properties of viruses from poultry in Hong Kong which represent a new (sixth) distinct group of avian paramyxoviruses
J.gen.Virol. 49, 255-262, 1980
- Smit, Th.
Rondhuis, P.R.
Studies on a virus isolated from the brain of a parakeet (Neophema sp.)
Avian Pathol. 5, 21-30, 1976
- Spalatin, J.
Hanson, R.P.
Jones, T.D.
Edema of the eyelid and face of chickens exposed to the viscerotropic type of Newcastle Disease virus
Avian Dis. 17, 623-628, 1973

- Stewart, G.H. Naturally occurring clinical Newcastle Disease in the racing pigeon
Vet.Rec. 89, 225-226, 1979
- Tumova, V. A hitherto unreported paramyxovirus
Robinson, J.H. of Turkeys
Easterday, B.C. Res.Vet.Sci. 27, 135-140, 1979
- Tumova, B. A further member of the Yucaipa
Stumpa, A. group isolated from the common wren
Janout, V. (Troglodytes troglodytes)
Uvizl, M. Acta Virol. 23, 504, 1979
Chmela, J.
- Ulbrich, F. Über eine natürliche Infektion von
Sodan, U. Tauben mit dem Virus der atypischen
Geflügelpest
Mh.Vet.Med. 9, 340-344, 1965
- Vindevogel, H. Sensibilité du pigeon voyageur adulte
Meulemans G. au virus de la maladie de Newcastle
Halen, P. castle
Schyns, P. Am.Rech.Vet. 3, 519-532, 1972
- Vindevogel, H. Le coryza infectieux du pigeon
Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, 11-53, 1981
- Vindevogel, H. Lentogenic strains of Newcastle disease virus in pigeons
Thiry, E.
Pastoret, P.-P. Vet.Rec. 10, 497, 1982 a
Meulemans, G.

- | | |
|----------------------|--|
| Vindevogel, H. | Réapparition de formes graves de la |
| Pastoret, P.-P. | maladie de Newcastle chez le pigeon. |
| Thiry, E. | Ann.Méd.Vét. <u>126</u> , 5-7, 1982 b |
| Peeters, N. | |
| | |
| WHO Expert Committee | A revision of the system of nomenclature for influenza viruses: a Who memorandum |
| | Bull.Wld.Hlth.Org. <u>58</u> , 585, 1980 |
| | |
| Wolters Hans, E. | Die Vogelarten der Erde |
| | Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin, |
| | 1975-1982 |

Herrn Prof. Dr. J. Kösters danke ich herzlich für die Überlassung des aktuellen Themas und die stets verständnisvolle Beratung.

Herrn Dr. R. Richter gilt mein Dank für die fachliche Unterstützung.

Weiterhin möchte ich allen Mitarbeitern des Instituts, insbesondere Frau Doris Kykillus, für die gewährte Hilfe danken.

Herrn Prof. Dr. H. Meier-Ewert vom Biederstein-Institut in München bin ich für die Bereitstellung der Ultrazentrifuge für die Virusreinigung und Herrn Dr. W.J. Neubert und Fräulein Jeanette Fey vom Max-Planck-Institut in Martinsried für die Möglichkeit der Durchführung der SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese zu Dank verpflichtet.

Darüberhinaus möchte ich Fräulein Ingrid Hönig, Diplombiologin, für wertvolle Ratschläge danken.

Herrn Prof. Dr. E. Dahme gilt mein Dank für die Auswertung der histologischen Präparate.

Nicht zuletzt möchte ich Herrn Dr. H. Gerbermann und Frau R. Böhme für die Anfertigung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen herzlich danken.

Lebenslauf

Name:	Ulrike Heil
Eltern:	Wilhelm Heil Anneliese Heil, geb. Scherer
1958	16. April geboren in Saarbrücken
1965-1968	Katholische Grundschule in Saarbrücken-Güdingen
1968-1977	Staatliches Gymnasium am Rotenbühl in Saarbrücken
1977	Abitur
1977-1983	Studium der Tiermedizin an der Ludwig- Maximilians-Universität, München
1979	Tierärztliche Vorprüfung
1983	Tierärztliches Staatsexamen und Approbation
1983-1984	Anfertigung der vorgelegten Disserta- tionsarbeit am Institut für Geflügel- krankheiten der Ludwig-Maximilians- Universität München

